UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1945-1946. — N° 86

TECHNIQUES DE MESURE DU TAUX DE PROTHROMBINE DANS LE SANG ET HYPERPROTHROMBINÉMIE GRAVIDIQUE

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 8 avril 1946

PAR

Henri-Alexandre SALLES

Élève de l'École principale du Service de Santé de la Marine
Médecin auxiliaire
Ancien externe des Hôpitaux
Diplômé de Médecine coloniale

Né à JOINVILLE-LE-PONT (Seine), le 13 mai 1920

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur ..... *Président.*
DAMADE, professeur ..... *Juges.*
BROUSTET, agrégé ..... *Juges.*
SARIC, agrégé ..... *Juges.*

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1946

SALLES (Henri - Alexandre).

Technique de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. (Travail du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André). — Bordeaux, Delmas, 1946. In-8°, 68 p.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1945-1946. N° 86.*)

SALLES (Henri - Alexandre).

Technique de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. (Travail du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André). — Bordeaux, Delmas, 1946. In-8°, 68 p.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1945-1946. N° 86.*)

SALLES (Henri - Alexandre).

Technique de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. (Travail du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André). — Bordeaux, Delmas, 1946. In-8°, 68 p.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1945-1946. N° 86.*)

SALLES (Henri - Alexandre).

Technique de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. (Travail du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André). — Bordeaux, Delmas, 1946. In-8°, 68 p.

(*Thèse Médec. Bordeaux. 1945-1946. N° 86.*)

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1945-1946. — N° 86

TECHNIQUES DE MESURE DU TAUX DE PROTHROMBINE DANS LE SANG ET HYPERPROTHROMBINÉMIE GRAVIDIQUE

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 8 avril 1946

PAR

Henri-Alexandre SALLES

Élève de l'École principale du Service de Santé de la Marine
Médecin auxiliaire
Ancien externe des Hôpitaux
Diplômé de Médecine coloniale

Né à JOINVILLE-LE-PONT (Seine), le 13 mai 1920

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur ..... *Président.*
DAMADE, professeur ....
BROUSTET, agrégé ..... } *Juges.*
SARIC, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1946

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. DUPÉRIÉ.

ASSESSEUR : M. LABAT.

PROFESSEURS HONORAIRES :

M. DENIGÈS, BEILLE, DUPOUY, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ROCHER, ANDÉRODIAS, LANDE, DUVERGEY, CARLE, LEURET, PÉRY.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	N.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	N.
Clinique chirurg. et gynécol.	N.	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. inf. et orthop.	LOUBAT.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	Clin. des maladies infectieuses	DAMADE.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.	Chimie biologique et médicale	MACHEBOEUF.
Anatomie	VILLEMIN.	Physique méd. et pharmaceutique.	N.
Anatomie générale et histologie.	G. DUBREUIL.	Méd. col. et clin. mal. exotiques.	BONNIN.
Hygiène	N...	Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Médecine légale et déontologie	DERVILLÉE.	Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	RÉCHOU.	Clin. mal. nerveuses et mentales.	DELMAS-MARSALET.
Chimie	CHELLE.	Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Toxicologie et hygiène appliquée.	LABAT.
Pharmacie	VITTE	Hydrologie thérap. et climatol.	CREYX.
Physiologie	FABRE.	Clinique odonto-stomatologique.	DUBECQ.
Clin. méd. des mal. des enfants.	FONTAN.		

PERRENS (Maladies mentales). CHARRIER (Chirurgie générale). FAUGÈRE (Obstétrique).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUFOUR.	Chirurgie générale	POUYANNE.
Physiologie	N.	Obstétrique	N.
Médecine générale	PIÉCHAUD.	id.	MAHON.
id.	N.	Ophtalmologie	N.
id.	N.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	BROUSTET.	Dermatologie et syphiligraphie	N...
id.	N.	Physique médicale	N...
id.	SARIC.	Chimie gén. pharm. et toxicol.	CASTAGNOU.
id.	DUBARRY.	Histoire natur. pharmaceutique	GIRARD.
Chirurgie générale	N.	Pharmacie	MESNARD.
id.	MASSÉ.	id.	N.
id.	N.	Histoire natur. méd. et parasitol.	R. MANDOUL.
id.	MAGENDIE.		

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	MASSÉ.	Cryptogamie	GIRARD.
Accouchements	MAHON.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Puériculture	FAUGÈRE.	Bactériologie	MOUREAU.
Zoologie et parasitologie	R. MANDOUL.	Physiologie	Mlle ROUGIER.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Chimie biologique	TAYEAU.
Ophtalmologie	N.	Parasitologie et biologie appliqu.	PAUTRIZEL.
Anatomie	J. BEAUVIEUX	Pathologie chirurgicale	J. VILLAR.
Chimie minérale	CASTAGNOU.	Pathologie chirurgicale	J. CHAVANNAZ.
Botanique	GIRARD.		

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

Dont l'immense affection et l'ardente sollicitude entourèrent ma jeunesse, je dédie cet acte final de mes études médicales, qui leur eût apporté une si grande joie.

A LA MEMOIRE DE MA GRAND-MERE ET DE MON ONCLE

A MA SŒUR ET A MON FRERE

A MA FILLEULE

MEIS ET AMICIS

A MES CAMARADES DE L'ECOLE DE SANTE NAVALE

A Monsieur le Médecin en chef de 1re classe GALIACY

Directeur de l'Ecole principale du Service de Santé de la Marine,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.

A Monsieur le Médecin en chef de 2e classe BOURRET

Sous-Directeur de l'Ecole principale du Service de Santé de la Marine.
Chevalier de la Légion d'honneur,
Commandeur du Nichan-Iftikhar,
Officier du Ouissan-Allaouit.

A NOS PROFESSEURS DE L'ECOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTE DE LA MARINE
ET DES TROUPES COLONIALES

A MES MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX, PARIS ET MONTPELLIER

A Monsieur le Docteur SERVANTIE

Biologiste des Hôpitaux,
Directeur du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.

Qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire, nous a inspiré le sujet de cette thèse et dirigé dans notre travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos sentiments admiratifs.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SARIC

Médecin des Hôpitaux,

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. BROUSTET

Médecin des Hôpitaux,
Officier d'Académie.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. DAMADE

Professeur de Clinique des maladies infectieuses,
Médecin des Hôpitaux,
Médaille d'argent des Epidémies,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier d'Académie.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Marc RIVIÈRE

Professeur de Clinique obstétricale,
Accoucheur des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier d'Académie.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

AVANT-PROPOS

Au début de l'année scolaire 1945-1946, nous collaborions au Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André sous la direction du Docteur Servantie, quand ce dernier nous suggéra tout l'intérêt que pourrait présenter une expérimentation des diverses méthodes de dosage de la prothrombine en vue d'apprécier leurs valeur et indication respectives, cette recherche étant étroitement solidaire des nouvelles thérapeutiques coagulantes et anticoagulantes.

Nous voulons remercier encore Monsieur le Docteur Servantie pour l'affabilité avec laquelle il nous a accueilli dans son laboratoire, la marque de confiance qu'il nous a donnée en nous confiant ce travail, et enfin, après avoir mis à notre disposition toutes les ressources de sa documentation en publications et microfilms, pour le soutien constant de la sûreté et de l'étendue de ses connaissances biochimiques et médicales.

Nous voulons aussi remercier vivement Monsieur le Professeur Marc Rivière d'avoir bien voulu s'intéresser à notre travail et accepter la présidence de cette thèse, après nous avoir ouvert toutes grandes les portes de son service à l'Hôpital André-Boursier.

Monsieur le Pharmacien principal de la Marine Babin, avec beaucoup de bienveillance, nous a souvent apporté le concours de sa grande expérience scientifique et de ses conseils autorisés, ainsi que son concours matériel, notamment en nous initiant au principe et au maniement de l'électro-photomètre. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Docteur Jean Chauvet nous a toujours accueilli et documenté avec beaucoup de courtoisie; nous le remercions vivement.

Enfin nous n'oublierons pas la bonté souriante de Sœur Anne-Marie et son savoir doublé de modestie, ni l'amical concours de Mademoiselle Saint-Laurent et de notre camarade Duplan.

TECHNIQUES DE MESURE

DU

TAUX DE PROTHROMBINE DANS LE SANG

ET HYPERPROTHROMBINÉMIE GRAVIDIQUE

INTRODUCTION

La coagulation sanguine représente un phénomène fondamental en pathologie comme en physiologie, et si le mécanisme intime n'en est pas encore complètement élucidé, les quinze dernières années ont été néanmoins particulièrement fécondes à ce sujet en données nouvelles d'un grand intérêt.

En 1934, Dam fait connaître l'existence d'un facteur vitaminique antihémorragique, la vitamine K, dont Almquist précise ensuite la structure chimique. Dam et Schönheyder établissent que le syndrome hémorragique consécutif à l'avitaminose expérimentale chez l'animal a pour substratum humoral essentiel un abaissement du taux de prothrombine dans le sang, et que l'administration de vitamine K ramène ce taux à la valeur normale.

Symétriquement, le domaine des facteurs anticoagulants s'enrichit d'un élément prometteur. Les premières constatations de Schofield en 1922, puis celles de Roderik en 1929, sur la maladie hémorragique du bétail consécutive à l'ingestion de trèfle gâté (« sweet clover disease »), et les recherches chimiques de Link aboutissent à l'isolement d'une substance dérivée de la coumarine, qui, administrée *per os*, provoque

une diminution importante de la coagulabilité sanguine. Campbell et ses collaborateurs, en 1940, reproduisent par synthèse le produit actif, la 3-3' méthylène-bis-di-hydroxy-coumarine (en abrégé : M. B. H. C. ou dicoumarine). Quick, dès 1937, établissait que l'action de cette substance se traduit principalement par un abaissement notable du taux de prothrombine du sang. Bingham, Meyer et Pohle, en 1941, proposent enfin d'utiliser cette propriété en vue de la thérapeutique et de la prophylaxie des thrombo-embolies.

Ces différentes possibilités thérapeutiques mettent en lumière l'intérêt de l'évaluation quantitative de la prothrombinémie, qui fut inaugurée en biologie clinique par Quick en 1935 [66] et appliquée aussitôt à l'étude de la pathogénie des hémorragies dans diverses affections hépatiques. Généralement répandu depuis dans les pays anglo-saxons et scandinaves, ce nouveau mode d'investigation hématologique est encore d'usage restreint en France, où il fut introduit par Caroli et Lavergne en 1939 [13] ; pratiqué selon des techniques diverses, aux résultats quelquefois contradictoires, il n'a peut-être pas suscité chez nous toutes les applications qu'il semble mériter.

C'est pourquoi nous avons cru intéressant d'examiner l'ensemble du problème de la mesure de la prothrombinémie et quelques-unes de ses incidences cliniques, dans des limites malheureusement plus restreintes que nous ne l'eussions souhaité.

Dans une première partie, nous résumerons les conceptions actuelles concernant le mécanisme de la coagulation sanguine et les propriétés des éléments qui y participent.

Nous aborderons ensuite l'exposé des diverses techniques utilisées pour la mesure du taux de prothrombine et leur discussion ; puis nous décrirons dans ses détails la technique que nous avons principalement adoptée dans nos mesures.

Enfin une dernière partie comportera le compte rendu de quelques résultats personnels, dont la majeure partie se réfère au problème des variations de la prothrombinémie au cours de la grossesse.

PREMIÈRE PARTIE

MÉCANISME ET ÉLÉMENTS DE LA COAGULATION SANGUINE

I. — Schéma de la coagulation du sang.

Le processus de la coagulation sanguine est résumé par le schéma diphasique classique de Morawitz et Bordet :

— 1er temps : Prothrombine + thromboplastine + Ca → thrombine.
— 2e temps : Thrombine + fibrinogène → fibrine.

La prothrombine est l'élément humoral, présent normalement dans le sang circulant. La thromboplastine n'apparaîtrait au contraire à l'état libre que dans des conditions anormales, tirant son origine des éléments figurés du sang, et plus particulièrement des plaquettes sanguines ou thrombocytes; la désintégration de ces dernières libère la thromboplastine, qui, en présence de l'ion calcium, active la prothrombine en thrombine. Dans un second temps, la thrombine transforme le fibrinogène dissout en fibrine insoluble; celle-ci s'organise en un fin réticulum qui emprisonne les éléments figurés et transforme la masse sanguine fluide en un gel, le caillot.

Mais l'esprit ne peut se satisfaire d'une notion schématique pour la compréhension du mécanisme intime du processus, il exige la connaissance des éléments en présence afin d'appréhender le mécanisme de leur interaction.

Il faut ajouter au schéma de Morawitz au moins un autre élément, le facteur antithrombinique, représenté par l'hépa-

rine de Howell, et qui, selon Fuchs, interviendrait comme neutralisateur, ou encore comme stabilisateur de la prothrombine, donc en antagonisme avec la thromboplastine. Les plus récentes théories du mécanisme de la coagulation s'efforcent d'intégrer ces données dans un système explicatif; Ferguson [24] assimile nettement les éléments de la coagulation à des facteurs enzymatiques, la thromboplastine étant une enzyme protéolytique activante du groupe des tryptases, de même que la thrombine, et l'antithrombine étant un ferment inhibiteur antitryptasique. Eagle [21] compare le couple enzymatique coagulant au couple similaire étudié par Kunitz et Northrop dans l'action tryptasique du suc pancréatique, où le trypsinogène est activé en trypsine par l'entérokinase.

II. — La prothrombine,

(anciennement sérozyme, thrombogène).

Bien que l'on n'ait pu encore avec précision caractériser la prothrombine du point de vue chimique et la présenter comme une substance à formule connue, l'étude de ses propriétés est assez avancée.

Elle semble liée à la portion globulinique des protéides plasmatiques par une liaison d'ailleurs labile; en effet, le plasma peut être « déprothrombiné » sous l'action d'agents adsorbants. C'est ainsi que l'adsorption par une suspension d'hydroxyde d'aluminium est un procédé de préparation de « plasma déprothrombiné » dont la technique facile est relatée par Ferguson [23] et par Lavergne [44].

La prothrombine est relativement thermolabile, un plasma porté quelques minutes à 56° perdant une partie de son activité, et la totalité à 75°. Par contre, à basse température elle serait stable selon Lavergne, et du plasma oxalaté placé à la glacière quelques minutes après la récolte conserverait un taux de prothrombine constant pendant huit jours.

Quick, considérant le problème de la constitution de la

prothrombine [68] émet l'opinion suivant laquelle on peut y définir deux éléments distincts A et B, le premier disparaissant par vieillissement du plasma, le second disparaissant après administration de dicoumarine. O'Neal confirme ces vues par des expériences toutes récentes [63].

L'origine hépatique de la prothrombine est démontrée dans les travaux de Warner, Brinkous et Smith [84], qui voient l'hépatectomie partielle expérimentale, suivie d'une chute notable, mais passagère, du taux de prothrombine. La vitamine K paraît jouer un rôle prépondérant dans la genèse hépatique de la prothrombine, nous allons l'envisager un peu plus loin.

Le taux de prothrombine dans le sang humain peut-il être considéré, chez le sujet adulte normal, comme une constante physiologique ne variant que dans de faibles limites ? Cette question est capitale, comme nous le verrons plus loin, pour établir la validité des méthodes d'évaluation quantitative de la prothrombinémie. Or, la mesure effectuée sur de multiples séries de sangs normaux a fourni des résultats sensiblement constants à tous les expérimentateurs qui se sont attachés à résoudre ce point particulier. Quick, par exemple, au milieu de nombreux résultats rigoureusement identiques, cite comme une véritable anomalie le cas observé par lui d'un jeune étudiant parfaitement sain et qui présentait un taux de prothrombine fixé aux environs de 50 % [70]; la mère et la sœur de ce sujet présentaient le même taux anormal; par contre, le taux du père et des deux frères était normal. L'auteur interprète ce fait comme un cas d'hypoprothrombinémie congénitale héréditairement transmise.

Soulier émet l'hypothèse tentante d'une véritable régulation nerveuse centrale de la prothrombinémie, à l'instar de celle de la glycémie par exemple, déterminant la fixité du taux normal et la variabilité du taux dans certaines conditions physiologiques particulières dont la gravidité serait un exemple.

Seul le nouveau-né présente à l'état normal une hypo-

prothrombinémie notable, entre 40 % et 10 %, mais ce taux remonte vite après le troisième jour de la vie pour atteindre le taux de 100 % vers le dixième jour; Soulier note d'ailleurs que cette normalisation reste fragile, le taux pouvant à nouveau, et très brusquement, remonter à des valeurs très basses, particulièrement chez le nourrisson débile ou taré. Ce phénomène s'éclaire si l'on veut bien le rapprocher de la notion aujourd'hui classique de la fragilité des mécanismes neuro-régulateurs chez le nourrisson.

Enfin, même chez l'adulte normal, certaines circonstances particulières s'accompagnent de variations brusques de la coagulabilité sanguine en rapport sans doute avec des modifications de la prothrombinémie; Binet décrit le phénomène au cours de l'anoxie, Tackats dans les émotions vives [81], et rapportent le phénomène à un processus intermédiaire de libération d'un « médiateur chimique » adrénalinique.

La prothrombinogenèse apparaît donc comme une importante fonction organique dont le relai terminal efficient est uniquement ou principalement le parenchyme hépatique, mais néanmoins dépendante d'influences neuro-hormonales complexes.

III. — La vitamine K.

Une étude de la vitamine K constitue le complément naturel du chapitre précédent, sur la prothrombine et sa genèse.

Il n'entre pas dans le cadre de ce travail de faire une étude complète, historique, biochimique et thérapeutique de la vitamine K; nous renvoyons aux nombreuses et pertinentes publications ou thèses déjà consacrées à ce sujet, de Lavergne [45], Soulier [79], entre autres, et nous nous bornerons à une rapide esquisse.

La vitamine K, ou mieux les diverses substances à rôle vitaminique K, obtenues actuellement par voie de synthèse, ont un caractère chimique commun, à savoir la possession d'un noyau naphtoquinonique.

Divers aliments recèlent de la vitamine K, mais les carences d'apport alimentaire ne sont pas à prendre en considération en pathologie humaine, car la flore bactérienne habituelle du tractus intestinal réalise la synthèse de cette vitamine, et la produit avec un rendement capable de subvenir, dans les conditions physiologiques, au besoin quotidien évalué à 1 milligramme (apport nécessairement renouvelé chaque jour, car le stockage n'existerait pas). Chez le nourrisson normal, la réascension du taux de prothrombine à partir du troisième jour de la vie coïncide avec l'envahissement bactérien du tractus intestinal primitivement stérile.

L'absorption de la vitamine K au niveau de la surface intestinale est plus intéressante, car elle ne se peut réaliser qu'en présence d'une excrétion biliaire normale. D'où possibilité de carences d'absorption, soit par interruption du flux biliaire (comme dans les ictères par rétention), soit par lésions étendues de la surface intestinale absorbante (colites, colectomies, etc.).

Enfin, la vitamine K, arrivée jusqu'à la cellule hépatique par la voie sanguine, participe à la synthèse de la prothrombine; ce travail constructeur est aisément réalisable par un parenchyme hépatique sain, mais fortement inhibé dans l'éventualité d'une dégénérescence profonde de ce même parenchyme sous l'effet de diverses agressions toxiques. Les troubles hépatiques graves entraînent ainsi une carence d'utilisation, la plus dangereuse, car souvent inaccessible aux tentatives thérapeutiques.

Pour saisir le mode d'insertion de la vitamine K dans l'ensemble structural de la prothrombine, il faut évoquer la nature diastasique de cette dernière, donc la juxtaposition en elle d'un substrat inerte ou apoenzyme (vraisemblablement un gros édifice moléculaire de globulines) et d'un élément actif ou coenzyme, comparable à un catalyseur biochimique; c'est dans la constitution de ce dernier élément qu'entre sans doute le noyau naphtoquinonique, car, nous le verrons plus loin, ce noyau aurait été retrouvé dans la structure de la thrombine, et celle-ci est fille de la prothrombine.

L'on conçoit donc aisément que toute perturbation dans le circuit physiologique de la vitamine K retentisse sur la teneur en prothrombine du sang et les aptitudes coagulantes de ce dernier.

IV. — La thromboplastine.

Nous savons déjà qu'au sein du fluide sanguin extravasé, le caillot se forme dans un délai de quelques minutes grâce à l'apparition progressive de thromboplastine, coïncidant avec l'agglutination puis la désintégration des plaquettes. La mesure courante du « temps de coagulation » permet donc surtout d'apprécier la vitesse de libération de la thromboplastine jusqu'au seuil de concentration minima à partir duquel le processus de coagulation proprement dit se déclenche et aboutit en quelques secondes à la constitution d'un gel fibrineux.

C'est la perturbation de cette fonction thromboplastique des thrombocytes qui constitue l'hémophilie où le « temps de coagulation » est presque indéfiniment retardé (alors que le « taux de prothrombine » est normal, preuve frappante de l'existence de deux catégories distinctes dans les troubles de la coagulation sanguine). A côté de l'hémophilie, où l'atteinte des thrombocytes est purement qualitative, il est évident qu'une chute importante du taux des plaquettes aura le même résultat.

Les suspensions concentrées de plaquettes sont au premier rang des agents thromboplastiques les plus puissants utilisés dans les méthodes d'étude de la coagulation *in vitro*, selon Benhamou [8].

Mais l'activité thromboplastique n'est pas l'apanage des éléments figurés du sang, et toutes les cellules de l'organisme semblent la posséder à un degré variable [14]. La substance cérébrale au premier chef, puis le tissu pulmonaire, le thymus et le placenta [28] révèlent un pouvoir thromboplastique considérable, facile à objectiver par l'influence coagulante extrêmement rapide qu'ont sur du plasma des extraits

aqueux de ces divers organes. Les cellules néoplasiques semblent même manifester une telle activité, et cela expliquerait peut-être en partie la fréquence notable des thromboses au cours des processus cancéreux.

La nature enzymatique de la thromboplastine paraît devoir s'imposer; elle serait formée d'un complexe lipido-protéidique, soluble dans les solvants des lipides, dans l'eau salée, insoluble dans l'acétone, et solidaire des globulines dans leurs réactions de précipitation.

L'on a pensé l'identifier à la céphaline en raison de la coïncidence de l'activité thromboplastique du tissu cérébral et de sa teneur élevée en céphaline, en raison aussi du fait qu'un extrait cérébral traité par un solvant des lipoïdes perd son activité thromboplastique, laquelle passe dans le filtrat. Mais Fischer a montré que la purification poussée de la céphaline la prive progressivement de la presque totalité de son activité thromboplastique; il semble donc que la thromboplastine active ne contracte avec la céphaline que les rapports d'un « co-enzyme » avec son « apoenzyme », soit simples liens physiques d'adsorption, soit liaison chimique très labile.

La thromboplastine est thermolabile, moins cependant que la prothrombine; il conviendra donc d'éviter au cours de sa préparation toute élévation importante ou prolongée de la température, afin d'obtenir un produit le plus actif possible.

La question d'une éventuelle spécificité de la thromboplastine au sein de chaque espèce animale a été envisagée; l'on doit admettre qu'il existe une spécificité relative du couple prothrombine-thromboplastine, car, sur du plasma humain par exemple, ce sont les préparations thromboplastiques à base de cerveau humain qui manifestent le pouvoir coagulant le plus intense. Cependant, les différences d'activité interspécifique sont peu importantes et ne justifient pas la condamnation de l'emploi des préparations thromboplastiques d'origine animale.

Nous n'envisagerons qu'à la fin de la deuxième partie de notre thèse la technique détaillée de préparation d'une thromboplastine expérimentale.

Certains auteurs américains et anglais emploient comme thromboplastine des venins coagulants, tel le venin de vipère « Russel », qui présenteraient l'avantage d'une grande stabilité.

V. — La thrombine.

Résultante de la première phase du processus de coagulation, la thrombine se retrouve en excès dans le sérum exsudé fraîchement du caillot; mais à l'inverse de la prothrombine elle disparaît très vite et complètement, sans doute neutralisée par le facteur antithrombinique.

Lyons fait connaître récemment qu'il a pu distinguer chimiquement dans la thrombine deux groupes distincts, l'un composé de radicaux thiols, l'autre constitué par un noyau naphtoquinonique et possédant le rôle actif dans la coagulation. La confirmation de cette constatation élucidera la destinée de la vitamine K et son rôle final [53].

La stabilisation de la thrombine est réalisée en milieux glucidiques, ou glycérinés entre autres.

La thrombine semble à priori l'agent hémostatique par excellence, actif directement sur le fibrinogène. En fait, les chirurgiens américains emploient actuellement avec profit des préparations stabilisées de thrombine pour l'hémostase locale.

Une récente publication de Léger préconise même la thrombine comme agent hémostatique général administré par voie intraveineuse. Contre toute attente, cette pratique n'entraînerait pas de thrombose massive intravasculaire, grâce à l'action protégeante d'un excès normal d'antithrombine dans le sang circulant, et l'effet hémostatique s'objectiverait progressivement dans les heures suivantes par un raccourcissement du temps de coagulation. Un tel agent coagulant serait fort

précieux dans l'éventualité d'hémorragies rebelles à la thérapeutique par la vitamine K. L'avenir prochain fera justice du bien-fondé de telles perspectives.

VI. — Le fibrinogène.

C'est un complexe globulinique d'origine hépatique, présent dans le plasma au taux moyen de 4 à 5 grammes par litre.

Les variations de la fibrinémie par excès ou par défaut ne sont pas rares, mais Lian et Sassier ont constaté que la fibrinémie pouvait descendre à 10 p. 100 de sa valeur normale sans qu'il en résulte de modifications de la coagulabilité sanguine. Nous verrons plus loin, dans l'étude pratique des réactions de coagulation plasmatique *in vitro*, le problème particulier que pose la dilution du fibrinogène.

Le fibrinogène est fort peu stable, et Ferguson indique la grande rapidité de l'altération qualitative des solutions expérimentales qu'on en prépare.

La fibrine, produit de transformation du fibrinogène, présente la réaction des protéides coagulés; son apparition se fait par des phénomènes de cristallisation micellaire.

Disons un mot de l'élément calcium, catalyseur de la première phase; cliniquement, ses variations, même considérables, n'affectent pas la coagulabilité sanguine. Dans les réactions *in vitro*, la concentration optimum de $CaCl_2$ à obtenir est de $\frac{M}{120}$.

VII. — Les facteurs antithrombiniques.

Nous avons déjà indiqué la notion d'une substance inhibitrice présente dans le sang circulant et inactivant la prothrombine.

L'héparine, isolée par Howell en 1918, à partir du sang,

est le prototype de l'antithrombine naturelle. Sa structure chimique, précisée par Bergström et Jorpes, est celle d'un polypeptide riche en soufre.

Le récent travail de Denise Quivy sur l'héparine constitue un apport très intéressant, accompagné d'une bibliographie complète; l'auteur décrit une méthode graphique d'évaluation de la teneur d'un plasma en héparine-antithrombine. Le principe consiste à établir la représentation graphique des variations de l'activité coagulante d'une préparation en fonction de solutions thromboplastiques successives de concentration géométriquement décroissante; si l'on porte en coordonnées les logarithmes des temps et des concentrations, le lieu des points déterminés par chaque couple de coordonnées est une droite. Or, la pente de cette droite est une constante pour un plasma donné, mais varie sous l'effet de l'addition de quantités minimes d'héparine.

La propriété physiologique essentielle de l'héparine est de ralentir considérablement le processus de coagulation du sang à des doses de l'ordre du millième de milligramme. Elle exerce cette action inhibitrice *in vivo* par introduction dans le courant sanguin, et aussi *in vitro* additionnée à des échantillons sanguins. Par contre, son action est nulle sur des préparations coagulables artificielles telles que des solutions purifiées de fibrinogène.

L'antithrombine physiologique est probablement très voisine de l'héparine, bien que l'on ne puisse encore affirmer l'identité absolue de ces deux éléments.

Wöhlisch localise les propriétés antithrombiniques dans la fraction albuminique des protéides plasmatiques.

Astrup dose l'antithrombine par neutralisation d'un excès de thrombine ajoutée.

Avec Howell, l'on peut concevoir le rôle exact de l'antithrombine comme une fixation stabilisatrice de la prothrombine dans le sang circulant; la thromboplastine intervient pour dissocier ce couple et libérer la prothrombine, ainsi activée en thrombine. L'antithrombine possède une capacité de

fixation limitée, au-delà de laquelle les quantités de thrombine en excès sont directement actives sur le fibrinogène.

Notons dès maintenant que nos méthodes de mesure du « taux de prothrombine », basées sur la vitesse de coagulation en présence d'un excès de thromboplastine, ne renseignent pas sur l'intervention éventuelle de variations quantitatives du facteur antithrombinique; l'étude physiopathologique de ces dernières variations est à peine amorcée, et l'on ne peut encore en apprécier l'importance.

La découverte récente des propriétés anticoagulantes de la dicoumarine apporte une variété nouvelle d'agent inhibiteur de la coagulation. L'étude biochimique et clinique de cette substance a suscité de nombreuses et très récentes études auxquelles nous renvoyons pour plus de détails; citons, entre autres, les publications de Jeanneret, Bouvrain, Olivier et Mattéi, Sommar Bruzelius, Ravina, les thèses de Baptiste, Baron, Laville, Vassy.

Notons que cette substance est constituée par la juxtaposition de deux molécules de 3-méthyl-4 oxycoumarine, corps doué de propriétés vitaminiques K; c'est là un cas particulier du phénomène d'inversion des effets physiologiques par doublement moléculaire.

L'administration de dicoumarine *per os* entraîne un abaissement notable du taux de prothrombine, atteignant son intensité maxima, selon von Kaulla, de la quarante-huitième à la soixante-douzième heure suivante, et se maintenant ensuite jusqu'au septième jour environ pour disparaître dès lors.

L'extension de l'usage de la dicoumarine en thérapeutique n'a pas été sans aléas sérieux, et la prudence est encore de mise. Pour conserver la maîtrise de son action, adapter la posologie et les modalités d'administration aux circonstances particulières que réalise chaque malade, un dosage sérieux et sûr du taux de prothrombine avant et pendant l'instauration du traitement apparaît de plus en plus comme une

condition essentielle; par son contrôle, l'on peut arriver à assurer à la fois l'efficacité et l'innocuité de cette thérapeutique.

L'on peut se demander si, parmi les effets de l'administration de la dicoumarine, il n'existe pas une augmentation du taux d'antithrombine dans le plasma. Nous regrettons de poser la question sans avoir pu encore tenter d'y répondre.

L'on tend à considérer le mode d'action de la dicoumarine comme une inhibition élective de la synthèse hépatique de la prothrombine; accessoirement, son action vaso-dilatatrice semble intervenir expérimentalement et cliniquement. Spooner souligne aussi la diminution de l'adhésivité des plaquettes après ingestion de dicoumarine. L'acide salicylique présente dans sa structure des analogies avec la dicoumarine, et cette analogie se retrouve dans l'action pharmacodynamique du produit, car Butt et ses collaborateurs signalent récemment de fortes hypoprothrombinémies accompagnant des accidents hémorragiques au cours du traitement salicylé antirhumatismal [12]. Quick préconise au cours d'un tel traitement la mesure systématiquement répétée du taux de prothrombine, permettant de prévoir la survenue d'accidents et d'administrer massivement de la vitamine K si le taux baisse dangereusement, en même temps que l'on suspend momentanément le traitement salicylé. Nous apporterons plus loin un exemple de cette éventualité.

DEUXIÈME PARTIE

LES MÉTHODES DE MESURE DU TAUX DE PROTHROMBINE

Nous étudierons ces méthodes dans l'ordre suivant :

A. *Méthode électrophotométrique de Meunier.*

Elle se différencie totalement des autres méthodes par son principe et sa réalisation pratique.

B. *Méthodes avec thromboplastine.*

La méthode de Quick en est le prototype, aussi bien chronologiquement que par son principe, dont les suivantes reproduisent le thème à travers des variantes d'adaptation particulière. Ce sont donc :

a) la méthode de Quick originale, appliquée au laboratoire sur du plasma provenant de sang recueilli sur oxalate;

b) quelques microméthodes d'adaptation de la technique de mesure de Quick, pratiquées non plus sur du plasma mais sur sang total capillaire;

c) méthodes sur sang total, sans décalcification préalable, au nombre de deux, et applicables au lit du malade :

1° méthode de Smith sur sang veineux;
2° méthode de Soulier sur sang capillaire.

***

Citons uniquement pour mémoire :

— la méthode de Warner, Brinkous et Smith;
— la méthode à l'héparine, de Schönheyder, Dam et Glavind,

toutes deux méthodes de pure recherche, trop complexes pour être utilisables en biologie clinique.

I. — La méthode électrophotométrique de Meunier.

Le principe de cette technique est la méthode photométrique proposée par Lian, Frumusan et Sassier pour l'étude de la coagulation plasmatique. Meunier, après Nygaard [61 *bis*], a utilisé l'électrophotomètre pour suivre les modifications d'opacité parallèles au déroulement du processus de coagulation, établi les relations réciproques des variables et conclu à la possibilité d'en déduire le taux de prothrombine du plasma.

L'appareil de Meunier en lui-même est fort intéressant; il comporte deux cellules photo-électriques montées en opposition et un spot lumineux qui dévie du 0 proportionnellement aux modifications d'opacité du milieu à étudier et aux inégalités de flux entre les cellules que ces modifications entraînent; un tambour gradué permet de rétablir constamment l'égalité de flux et de ramener le spot au 0, de sorte que la lecture des valeurs successives d'opacification se fait à intervalles réguliers par les valeurs successives de rotation du tambour.

Le sang à étudier est recueilli sur citrate à 4 p. 100 (9 parties de sang pour 1 de citrate), centrifugé, et le plasma décanté est versé dans la cuve de l'appareil. L'on ajoute dans la cuve 4 parties de solution de $CaCl_2$ $\frac{M}{40}$ pour 1 partie de plasma, la lecture commence dès ce moment. Puis une courbe est établie en portant en abscisses le temps, en ordonnées les valeurs successives d'opacité lues toutes les trente secondes.

Après un temps de latence t, où l'opacité n'augmente guère, celle-ci croît brusquement très vite jusqu'à une valeur limite h, correspondant à la fin de la coagulation. Selon Meunier, la valeur de t traduirait la richesse du plasma en thromboplastine, la valeur de h le taux de fibrinogène; si

l'on considère enfin dans la portion de courbe rapidement ascendante le temps Δt correspondant à un certain accroissement d'opacification [10° du tambour par exemple], le rapport : $R = \frac{\Delta t}{t}$, traduisant la vitesse relative d'accroissement d'opacité rapportée au temps de latence, ne dépendrait que de la teneur en prothrombine du plasma. Une valeur de R de 0,20 correspondrait à un taux de 100 p. 100, les variations de R étant inversement proportionnelles à celles du taux.

Cette technique s'expose d'abord au reproche de nécessiter un appareil délicat et dispendieux, mais, reproche encore plus fondamental, la valeur même de ses *résultats* est fortement battue en brèche. Soulier compare cette méthode avec la méthode de Quick sur 6 sujets cliniquement normaux; celle-ci répond dans les 6 cas 100 p. 100, celle-là fournit des taux allant de 10 à 60 p. 100. Nous avons déjà signalé par ailleurs la solidité de la notion d'un taux fixe chez le sujet normal, donc la méthode de Meunier s'avère très aberrante sur ce point.

Plus encore, Portes et Varangot ont utilisé l'électrophotomètre pour étudier la prothrombinémie chez la femme enceinte, et trouvé une majorité de taux très bas (60 femmes sur 100 auraient eu un taux compris entre 50 et 10 p. 100. Or, tous les auteurs étrangers, anglo-saxons, scandinaves et allemands trouvent au cours de la grossesse une énorme majorité de taux au moins égaux à 100 p. 100. Pour notre part, nos résultats sont aussi formellement en contradiction avec ceux de la méthode de Meunier.

Nous avons cependant désiré faire nous-même l'expérience de cette discordance; M. le Pharmacien principal de la Marine Babin a bien voulu mettre à notre disposition l'électrophotomètre de son laboratoire à l'Ecole principale du Service de Santé de la Marine, et nous démontrer le délicat maniement de l'appareil. Nous avons choisi deux plasmas typiques : le premier, soit A, venait d'une parturiente normale dont le taux de prothrombine se chiffrait à 130 p. 100 avec la méthode

de Quick; le second, soit B, d'une opérée ayant ingéré prophylactiquement une forte quantité de dicoumarine, et présenté quelques jours après un syndrome hémorragique avec taux de prothrombine à 15 p. 100.

L'appareil était réglé en lumière monochromatique rouge, les cellules fortement diaphragmées, avec surcharge numéro 2. Les résultats furent les suivants : pour A, R = 0,15; pour B, R = 0,8, donc tous deux fortement au-dessus de 100 p. 100, et B plus encore que A.

Donc résultat discordant d'avec celui de la méthode de Quick, cette dernière étant bien mieux en accord avec le contexte clinique.

La méthode de Quick reçoit notre confiance au cours de cette comparaison, car les résultats fournis par elle sont homogènes et cohérents, et son principe même nous paraît d'une évidence logique plus frappante.

Il semble donc que l'usage de l'électrophotomètre pour la mesure du taux de prothrombine doive être réservé, et les résultats acquis antérieurement avec cette méthode sont peut-être à réviser.

II. — Méthode de Quick.

Nous savons déjà que le déclenchement du mécanisme de la coagulation est sous la dépendance de deux variables, prothrombine et thromboplastine. Quick a imaginé d'éliminer la deuxième de ces variables en ajoutant au plasma décalcifié un large excès d'une solution thromboplastique; ensuite, dès que l'on recalcifie le mélange réactif par addition d'une quantité convenable de solution de chlorure de calcium, le processus de coagulation intervient dans un délai très court dont la durée est inversement proportionnelle à la concentration en prothrombine du plasma étudié.

Quick, dans sa première technique de 1935, utilisait comme thromboplastine une macération aqueuse de cerveau de lapin;

il préconise maintenant une poudre de cerveau du même animal obtenue après traitement à l'acétone, de longue conservation à la glacière, et à partir de laquelle est préparée la solution thromboplastique par macération en sérum physiologique.

La mesure s'opère à température constante. Après avoir mesuré le temps de prothrombine d'un plasma normal, Quick considère ce temps comme correspondant au taux de 100 p. 100. Puis il opère diverses dilutions de ce même plasma en sérum physiologique, dans les proportions successives de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, correspondant respectivement à des concentrations en prothrombine de 50, 25, 12 et 6 p. 100. L'on peut alors établir une « courbe d'étalonnage » en portant en abscisses les chiffres de pourcentage et en ordonnées les temps de Quick correspondants. Le lieu géométrique des points déterminés par ces quelques coordonnées dessine une courbe dont le type est reproduit page 39. Quick utilise actuellement une thromboplastine lui donnant un temps de douze secondes sur plasma normal non dilué.

Pour déterminer ensuite le taux d'un plasma quelconque, il suffit de porter en ordonnées le temps qu'il donne, et de lire en abscisse le taux correspondant.

Chaque courbe d'étalonnage ne sera rigoureusement valable que pour la solution thromboplastique ayant servi à l'établir, car l'activité de chaque solution lui est propre, et ne coïncide pas toujours exactement avec l'activité d'une autre solution cependant préparée sensiblement dans les mêmes conditions.

Ayant adopté la méthode de Quick (un peu modifiée) comme technique principale de base, nous en décrirons plus loin les détails de réalisation pratique.

Les objections théoriques possibles contre la méthode de Quick sont :

1° L'intervention possible de grosses modifications quantitatives ou qualitatives du fibrinogène dans le plasma étudié, modifications d'ailleurs rares; nous verrons qu'il est possible

d'y remédier par l'emploi de dilution dans un plasma étranger déprothrombiné.

2° Le fait que le temps de Quick traduit le déroulement successif des deux phases de la coagulation, et qu'une modification isolée dans la vitesse du deuxième temps : « thrombine + fibrinogène → fibrine » pourrait allonger ce temps sans qu'il y ait un taux anormal de prothrombine. Cette objection théorique ne serait valable que s'il était démontré que, malgré une identité de taux de prothrombine et de toutes autres conditions, la vitesse de ces réactions pourrait différer d'un sang à un autre.

3° L'intervention du facteur antithrombinique n'est pas prise en considération. Mais l'addition de thromboplastine en excès réalise probablement une neutralisation de ce facteur, de sorte que la seule variable restant en jeu est bien la teneur initiale en prothrombine.

Ce dernier détail pourrait permettre d'expliquer les défaillances des méthodes du type « Nygaard-Meunier » où il n'y a pas neutralisation des antithrombines par un grand excès de thromboplastine.

Au point de vue pratique, à part quelques précautions dans la récolte et le transport du sang à étudier, et la nécessité d'une ponction veineuse, la méthode de Quick est relativement facile et nécessite un matériel très courant.

III. — Microméthodes avec décalcification.

Plusieurs auteurs, Kato, Fiechter, Plum, Lehman, entre autres, utilisent des microméthodes avec mesure, non plus sur plasma, mais sur sang total.

Lehman, par exemple, opère de la façon suivante : avec une pipette d'une capacité de 0,100 cm^3, il aspire une solution de citrate de soude à 3,7 % jusqu'à un premier trait de jauge correspondant au volume 0,020 cm^3. Puis une grosse goutte de sang du sujet à étudier est extériorisée par ponction au vaccinostyl du lobule de l'oreille, et ce sang aspiré rapide-

ment jusqu'à ce que le niveau supérieur du citrate affleure le trait de jauge de 0,100 cm^3. L'ensemble est aussitôt expulsé dans un tube réfrigéré, où le temps de Quick sera ultérieurement mesuré après addition de 0,100 cm^3 de thromboplastine et 0,100 cm^3 de solution de $CaCl_2$ à 0,5 %, comme dans la technique originale de Quick.

Nous avons essayé cette méthode comparativement à la méthode sur plasma chez de mêmes sujets; comme à Soulier, il nous est apparu que ces microméthodes comportent une marge d'erreur plus importante. Le fait est dû probablement à l'importance des phénomènes de surface dans la lumière presque capillaire de ces pipettes fines; les temps d'aspiration et de rejet du sang doivent se succéder presque instantanément.

Néanmoins, ces méthodes sont fort intéressantes. Tout d'abord, le mode de prélèvement, moins pénible pour le malade, facilite les investigations en grande série ou de plus fréquentes mesures chez le même malade. Ensuite la technique de mesure au laboratoire étant identique à celle de la méthode sur plasma, l'utilisation des courbes d'étalonnage se justifie aisément par la connaissance précise du degré de dilution; il ne faudra cependant oublier qu'en microméthode l'on opère non plus sur plasma, mais sur sang total, où le rapport d'hématocrit (proportions respectives de plasma et d'éléments figurés) peut différer d'un sang à l'autre.

L'amélioration de la mesure par addition de plasma déprothrombiné est également possible.

Donc, réserve faite sur les conditions délicates de leur emploi et leur précision plus imparfaite, les adaptations de la méthode de Quick en microméthodes avec prise de sang capillaire sont très réalisables et souvent précieuses.

IV. — Méthode de Smith [77].

Smith et ses collaborateurs proposent une méthode simplifiée, sans décalcification, qui présente l'avantage d'être réa-

lisable très facilement au lit même du malade, mais qui nécessite un étalonnage immédiat par répétition de la mesure sur un sujet normal pris comme témoin.

Smith a utilisé comme thromboplastine une solution préparée par macération de poumon de bœuf frais dans du sérum physiologique; elle peut être avantageusement remplacée par une préparation à base de poudre de cerveau de lapin.

La réalisation pratique est la suivante: l'on marque d'abord sur des tubes à hémolyse un trait de jauge au volume de 1 cm^3 et l'on dépose au fond de ces tubes 0,1 cm^3 de solution thromboplastique. L'on prélève un peu plus de 1 cm^3 de sang du malade par ponction veineuse, et l'on expulse immédiatement après 0,9 cm^3 de sang dans le tube à hémolyse, de manière à le remplir jusqu'au trait de jauge. Le tube est aussitôt saisi entre les doigts, bouché avec le pouce et retourné une ou deux fois, en même temps qu'un chronomètre est déclenché. Puis l'on imprime au tube, tenu au bout des doigts, une série de mouvements alternatifs d'inclinaison vers l'horizontale et de redressement vers la verticale. Le moment final de la mesure, par coagulation « explosive » du mélange, est celui où la vitesse d'écoulement du sang le long de la paroi, lors de l'inclinaison latérale, s'annule brusquement; le niveau du liquide reste alors « fixé » dans sa position.

Soit t_1 le temps du sang à étudier, t_2 celui du sang normal témoin; le rapport $\frac{t_2}{t_1}$ correspond non pas au « taux de prothrombine, mais à ce que l'on convient de nommer un « index de prothrombine », la valeur de l'index de 0 à 100 %, étant exprimée par un chiffre supérieur à celui du « taux » correspondant mesuré suivant la méthode de Quick. Par exemple, un « index » de 50 % correspond à un « taux » de 20 %; c'est cette relation que nous avons voulu concrétiser dans le graphique reproduit page 39, où toute droite parallèle à l'axe des abscisses intersecte les deux courbes en deux points dont

la coordonnée lue en abscisse exprime pour l'un une valeur d' « index » et pour l'autre le « taux » correspondant.

La méthode de Smith peut être employée par le médecin praticien au lit du malade, en utilisant une préparation commerciale à activité thromboplastique, telle par exemple « l'Hémostatique Ercé », à condition toutefois de n'utiliser que des échantillons fournissant avec le sang témoin un temps de prise en masse inférieur à 50 secondes.

L'indication et les limites de la méthode de Smith lui sont communes avec la méthode de Soulier, que nous examinerons maintenant.

V. — Microméthode de Soulier.

Cette méthode est réalisée sur du sang capillaire total, et la lecture opérée sur lame, sans décalcification (donc principe semblable à celui de la méthode de Smith).

Sur une lame bien dégraissée, l'on dépose, à l'aide d'une pipette Pasteur très finement étirée, une gouttelette de solution de thromboplastine de 2 millimètres de diamètre; puis une goutte de sang, obtenue par piqûre appuyée du lobule de l'oreille (ou du talon chez le nourrisson) est recueillie sur la lame par-dessus la goutte de thromboplastine, en même temps qu'un chronomètre est déclenché au moment précis de l'entrée en contact des gouttes. Aussitôt, avec un agitateur à pointe fine, tenu à portée de la main, le mélange homogène des deux gouttes est parachevé rapidement, et du même coup la goutte résultante est étalée sur une surface d'environ 8 à 10 millimètres de diamètre. Ensuite la lame est retournée vers le sol, au-dessus d'une surface blanche pour éviter des reflets gênants, et agitée d'un mouvement assez rapide de rotation oscillatoire; l'on suit attentivement le déplacement circulaire du centre opaque de la goutte, que l'on voit un moment donné se ralentir, puis brusquement s'annuler au moment final de la mesure. La mesure est effectuée, au début et à la fin d'une série de mesures, sur un sujet témoin normal.

La solution thromboplastique utilisée par Soulier est de préparation identique à celle de Quick, à partir de substance cérébrale traitée par l'acétone. L'auteur recommande expressément de n'utiliser qu'une thromboplastine coagulant, avec sa méthode, le sang normal en moins de trente secondes.

Soulier propose d'exprimer les résultats :

— soit en « index de prothrombine », selon la formule de la méthode de Smith;

— soit directement en « taux de prothrombine », par référence à une courbe d'étalonnage établie selon la technique de Quick sur le sang d'un sujet témoin normal, avec la préparation thromboplastique qui servira ensuite dans les mesures par méthode de Soulier. L'auteur affirme avoir vérifié expérimentalement le bien-fondé de cette transposition, basée sur le postulat du parallélisme des courbes établies avec une même thromboplastine dans diverses conditions d'activité (en rapport avec le vieillissement et la température).

Les avantages de la méthode de Soulier tiennent au mode de prélèvement du sang et à la simplification des conditions de mesure.

Cependant l'utilisation en est plus délicate qu'il ne semble, car le facteur personnel intervient considérablement et rend malaisé d'obtenir la standardisation nécessaire à toute méthode de mesure. Un facteur d'infidélité non négligeable provient notamment de la difficulté qu'on rencontre pour prélever des gouttes de sang d'un volume identique chez divers sujets, ou successivement chez le même sujet; il en résulte une variabilité inévitable dans la proportion volumétrique entre le sang et la thromboplastine; or l'influence du facteur « dilution » sur le temps de prothrombine n'est pas négligeable. On peut, il est vrai, pallier à cet inconvénient en répétant plusieurs fois la même mesure et en prenant comme résultat définitif la moyenne des résultats successifs.

L'imprécision de la méthode de Soulier (et aussi de la méthode de Smith) apparaît particulièrement importante pour

l'appréciation des taux de prothrombine allant de 50 % à 100 % et au-delà, car dans cette zone les différences de temps correspondant à des taux de plus en plus élevés sont minimes, nous l'avons vu.

La microméthode de Soulier ne sera donc utilisée avec profit que dans l'étude des taux de prothrombine inférieurs à 50 %; dans cette zone, sa sensibilité est largement suffisante pour les besoins de la clinique.

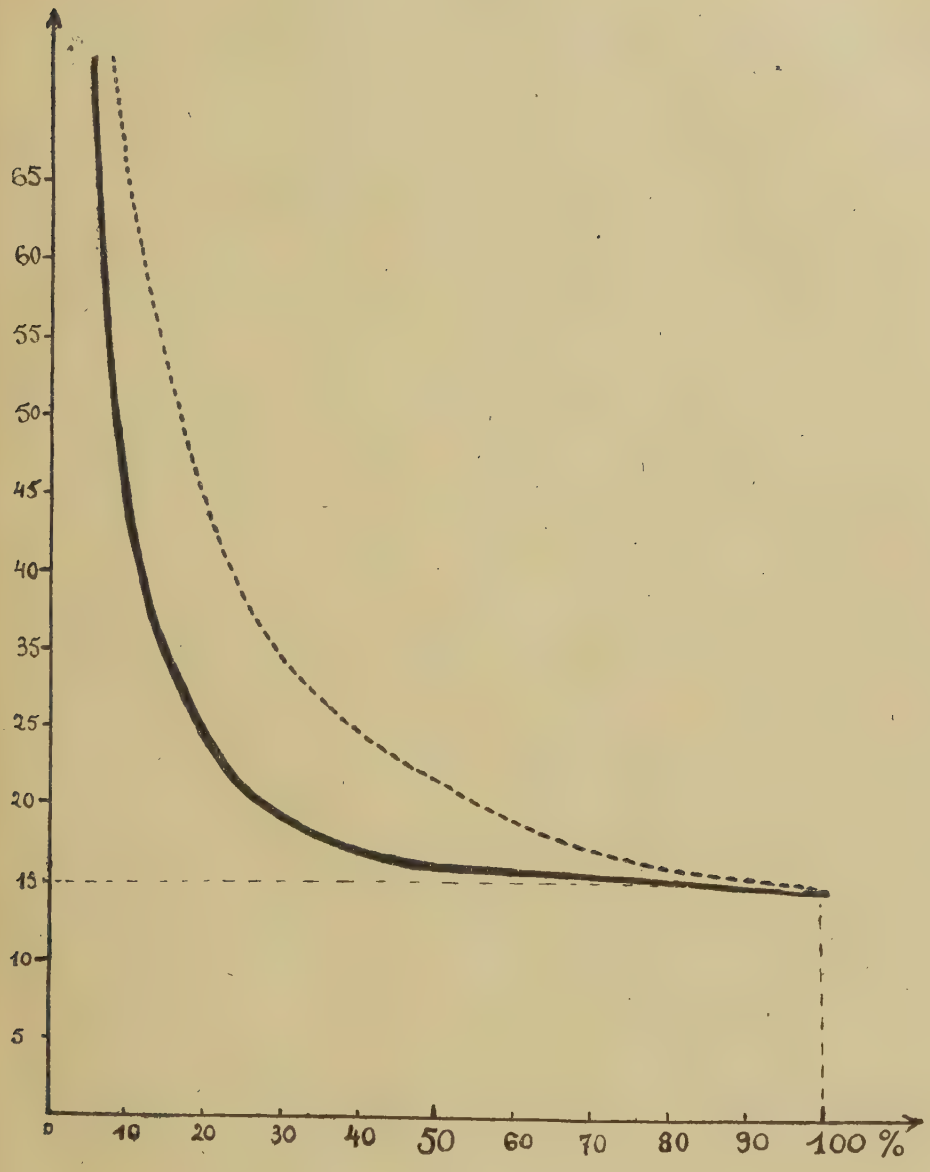
TROISIÈME PARTIE

MODALITÉ D'UTILISATION DE LA MÉTHODE DE QUICK POUR LA MESURE DES TAUX DE PROTHROMBINE ÉLEVÉS

Parmi les quelques investigations que nous avons eu l'occasion de pratiquer dans diverses éventualités cliniques, les plus nombreuses furent relatives aux modifications de la prothrombinémie pendant la grossesse et le *post partum*. Ces modifications, appréciées par différents auteurs de manière assez contradictoire, nous ont semblé, dans la grosse majorité des cas, consister en des hyperprothrombinémies, et nous avons choisi la méthode de Quick comme la plus apte à chiffrer avec quelque précision ces taux élevés, grâce à la faculté d'y opérer sur plasma dilué en proportions réglables.

Considérons, page 39, un type de courbe d'étalonnage obtenue par détermination des valeurs du temps de Quick pour un plasma normal pur, puis dilué en proportions géométriquement décroissantes. Si l'on extrapole la courbe représentative au-delà de 100 %, et que l'on soupçonne l'existence de taux supranormaux correspondant à cette zone, il est évident que la mesure sur plasma pur fournira un temps ne différant du temps dit « normal » que d'une quantité pratiquement égale à la marge d'erreurs sur les temps prévue dans la méthode (une à deux secondes à notre avis).

Le problème ne peut être résolu qu'en reportant la mesure dans la zone sensible de la courbe par une dilution adéquate du plasma à étudier.



Courbe d'étalonnage d'une solution thromboplastique.

— en abscisses : taux de prothrombine exprimé en pourcentage du taux normal;

— en ordonnées : temps de prothrombine en secondes.

La courbe des taux de prothrombine est en gros trait plein; en pointillé, courbe représentative d' « index de prothrombiné » superposée au graphique pour comparaison des index et des taux correspondants.

Par exemple, supposons un plasma dont la teneur en prothrombine soit double de la normale; sur le graphique ci-contre, le temps du plasma normal pur est quinze secondes, celui du plasma étudié se révélera de peu inférieur, aux alentours de quatorze secondes. Au contraire, dilué au 1/8, le même plasma coagulera en vingt et une secondes, temps correspondant à une concentration de 25 % en prothrombine, à ± 2 % près; le taux réel du plasma étudié est donc 25 × 8 = 200 %, à ± 16 % près, ce qui est une approximation largement satisfaisante.

Pour appliquer ce procédé, nous avons d'abord opéré les dilutions en sérum physiologique (NaCl 9 ‰) selon la technique de Quick lui-même. Nous avons tout de suite rencontré un inconvénient pratique important à cette dilution en sérum salé. En effet, sur plasma non dilué l'appréciation du « moment » de coagulation est possible à moins d'une seconde près; le mélange réactif « plama + thromboplastine + solution recalcifiante » se fige instantanément par un phénomène de coagulation « explosive ». Mais dès la dilution au 1/4 et plus encore au 1/8, le moment de coagulation devient beaucoup plus imprécis, le caillot, primitivement très lâche, n'imprime plus au phénomène le même caractère instantané, et la précision de la mesure en souffre beaucoup.

La cause de cette modification réside dans la dilution du plasma étudié, portant sur le taux du fibrinogène en même temps que de la prothrombine, dilution qui, poussée au-delà de certaines limites, retentit sur la constitution et le mode d'apparition du coagulum.

En face de cet obstacle, nous avons grandement bénéficié des suggestions émises par Lavergne [44] et Thodarson [82] sur l'utilisation du plasma déprothrombiné comme agent de dilution. Cette modification technique nous a fourni un moyen commode pour remédier à la difficulté précitée; il est en effet relativement facile d'obtenir un plasma presque totalement privé de toute activité prothrombinique sans altérer sa teneur en fibrinogène. La substitution du plasma dépro-

thrombiné au sérum salé comme agent de dilution rétablit la teneur initiale en fibrinogène et la facilité d'appréciation du « moment de coagulation », même pour des dilutions élevées du plasma étudié, au 1/8, 1/16 et même 1/32.

Nous allons maintenant aborder la description des temps successifs constituant la réalisation pratique de la méthode de Quick ainsi modifiée.

I. — Préparation de la thromboplastine.

Nous avons suivi les grandes lignes de la préparation selon Quick, seconde manière. Sur des lapins fraîchement tués, l'on prélève avec précaution tout l'encéphale jusqu'au bulbe; puis l'on « épluche » la surface cérébrale dans tous ses replis en enlevant les caillots sanguins et la pie-mère avec ses vaisseaux. L'ensemble de la substance cérébrale ainsi nettoyée est placé dans un petit mortier (il est avantageux de traiter simultanément deux ou trois cerveaux) et broyé jusqu'à obtention d'une pâte homogène.

De l'acétone rigoureusement pure et anhydre est alors ajoutée, en volume un peu supérieur à celui de la matière traitée; le broyage est continué dans l'acétone pendant dix minutes. Puis on laisse reposer un instant, l'acétone surnageant est décantée et jetée, la pâte cérébrale restante déposée sur un linge fin et propre refermé en bourse sur elle; on exprime vigoureusement à travers le linge les dernières gouttes d'acétone. La pâte cérébrale, déjà sensiblement déshydratée, est replacée dans le mortier, qui a été essuyé et séché; une nouvelle quantité d'acétone neuve est ajoutée. Même opération est répétée une seconde, puis une troisième fois. Après le troisième passage et expression, la matière cérébrale est réduite en poudre que l'on étale et sèche sur un papier pendant quelque quinze minutes sous l'effet de la température ambiante. La poudre est ensuite broyée à sec dans le mortier pour lui donner un état très finement pulvérulent (cinq minutes). La poudre est alors de teinte jaune orangé pâle; elle est

mise dans un tube bien bouché et placée à la glacière, où son activité reste constante durant un mois au moins. Un cerveau moyen de 10 grammes fournit 1 gramme de poudre.

La solution thromboplastique est préparée par mise en suspension de poudre en sérum physiologique NaCl 9 ‰ dans les proportions de 0,3 gramme de poudre pour 5 cm³ de sérum salé + 0,1 cm³ de solution d'oxalate de soude M/10 (neutralisant les traces de calcium). Le tout est mélangé dans un tube à centrifuger plongé dans un bain-marie à 40 degrés pendant dix minutes, d'où on le sort toutes les minutes pour l'agiter vigoureusement pendant cinq secondes.

Puis la suspension est soumise à une centrifugation de dix minutes à 3.000 tours. Le liquide surnageant doit être faiblement opalescent, mais homogène, exempt de toutes particules visibles en suspension; il est décanté soigneusement et réparti en tubes bouchés, par fractions de 4 cm³, et conservé dans la glacière.

Il est bon de n'établir la courbe d'étalonnage qu'après un séjour de la solution à la glacière pendant une heure, qui stabilise son activité. Chaque tube retiré de la glacière et utilisé pour une séance de dosages sera ensuite éliminé. L'activité de la solution se conserve immuable à 0 degré pendant six jours; il suffira donc de préparer et étalonner une solution en début de semaine.

L'activité d'une thromboplastine est conditionnée par la rapidité de la préparation, par la perfection de pulvérulence et la bonne déshydratation de la poudre.

Nos préparations nous ont fourni régulièrement un temps de quinze secondes sur plasma normal non dilué; elles sont un peu moins actives que les préparations actuelles de Quick, qui lui donnent un temps de douze secondes.

II. — Préparation du plasma déprothrombiné.

Nous avons suivi la méthode simple indiquée par Lavergne [44] à l'hydroxyde d'aluminium.

L'on utilise un plasma oxalaté recueilli et préparé dans les mêmes conditions qu'un plasma pour dosage. Dans un tube à centrifuger réfrigéré sont versés 10 cm³ de plasma; l'on y ajoute 2 grammes d'hydroxyde d'aliminium (nous avons utilisé un produit « Merk » rigoureusement anhydre et exempt d'alcalis). Le tube est agité constamment pendant dix minutes, en même temps que réfrigéré dans un récipient-glacière, puis l'on centrifuge rapidement, l'on décante le plasma surnageant, qui est traité une deuxième fois dans les mêmes conditions par une nouvelle quantité d'hydroxyde d'aluminium.

Le plasma, décanté après la deuxième centrifugation, est prêt pour l'emploi; au début de la série de dosage, ce plasma déprothrombiné, additionné de thromboplastine et de $CaCl_2$ et mis au bain-marie, ne coagule pas avant trois ou quatre minutes, ce qui indique une élimination quasi complète de la prothrombine.

Il nous est apparu absolument nécessaire de préparer un plasma déprothrombiné frais avant chaque série journalière de dosages; en effet, le fibrinogène est l'élément plasmatique le plus fragile, et malgré conservation à la glacière il se dénature invariablement au bout de vingt-quatre heures. L'emploi d'un plasma vieilli fausserait les résultats.

III. — Conduite pratique du dosage.

a) Le matériel nécessaire est le suivant :

— Tubes à centrifuger munis d'un trait de jauge à 5 ou à 10 cm³ pour prélèvement.

— Récipient-glacière pour transport.

— Solutions :

- d'oxalate de soude M/10 (1,34 g./100 cm³ H_2O dist.);
- de chlorure de calcium M/40 [1,11 g. de $CaCl_2$ fondu, pour 400 cm³ d'eau distillée].

— Bain-marie thermostatique réglé à 40 degrés.

— Tubes à hémolyse de calibre identique à 1/10 de mm. près, nettoyés au mélange sulfo-chromique, rincés à l'eau ordinaire puis à l'eau bidistillée, séchés à l'étuve.

— Quatre pipettes terminales de contenance 0,2 cm³, avec graduations intermédiaires.

— Chronomètre à déclenchement.

b) Le prélèvement :

Du sang veineux est prélevé à la seringue et rejeté aussi dans un tube à centrifuger, jaugé, contenant la solution d'oxalate (proportion : 9 volumes de sang sur 1 volume de solution d'oxalate). Le tube est placé et transporté dans le récipient-glacière.

c) La mesure au laboratoire :

Le sang à étudier est centrifugé, le plasma recueilli. Dans un tube à hémolyse, verser avec la première pipette 0,2 cm³ de plasma; avec la deuxième pipette, ajouter un volume égal de solution thromboplastique, agiter, porter au bain-marie.

Prélever 0,2 cm³ de solution calcique chaude et la rejeter rapidement en soufflant dans le tube de mesure, mais sans plonger la pipette au fond du tube ni faire de bulle. En même temps l'on déclenche le chronomètre tenu de la main gauche.

Le tube est sorti du bain-marie, agité en deux ou trois secondes pour homogénéiser, puis aussitôt replongé dans le bain-marie; il n'en sera sorti que deux ou trois secondes avant le moment de coagulation (évalué dans une mesure d'essai précédente) et manipulé exactement comme il a été décrit dans la méthode de Smith (voir page 34, mais ici la prise en masse est encore mieux observable), le chronomètre étant stoppé au « moment » de coagulation.

Une mesure sera faite ensuite en versant 0,05 cm³ de plasma à étudier dans un tube, puis, avec la quatrième pipette, 0,15 cm³ de plasma déprothrombiné pour compléter à 0,2. La suite est effectuée comme ci-dessus. L'on obtient le temps de dilution au 1/4.

Pour un plasma hyperprothrombinémique, la dilution au 1/8 sera pratiquée de préférence.

La lecture se fait par référence à la courbe d'étalonnage de la thromboplastine établie au début d'une série hebdomadaire sur un plasma normal témoin à diverses dilutions en plasma déprothrombiné. (Voir la courbe type, page 39.)

Avec un bon entraînement, nous évaluons la marge d'erreur maximum de détermination du temps de Quick à une seconde.

Dans la zone sensible, cela répond à une erreur sur les taux à ± 2 %.

QUATRIÈME PARTIE

APPLICATIONS CLINIQUES DE LA MESURE DES TAUX DE PROTHROMBINE

Un peu plus de cent dosages pratiqués nous ont tout d'abord confirmé la constance du taux de prothrombine chez les sujets cliniquement normaux, notamment par la similitude des temps mesurés sur plusieurs plasmas témoins avec une même préparation thromboplastique.

Dans le domaine des valeurs anormales de taux de prothrombine que nous avons pu explorer, nous exposerons d'abord ensemble divers cas d'hypoprothrombinémie pathologique; puis nous examinerons les résultats de quelques investigations systématiques pratiquées au cours de la grossesse et du *post partum*, où l'augmentation vraiment remarquable du taux de prothrombine mérite d'être discutée sous l'angle de sa signification et de ses conséquences pathologiques éventuelles. Ce dernier point nous amènera finalement à essayer de définir quel doit être le rôle de la détermination du taux de prothrombine au cours des nouvelles thérapeutiques anticoagulantes de la thrombose veineuse.

I. — Quelques cas d'hypoprothrombinémie.

Nous avons déjà signalé dans la première partie de cette étude les circonstances majeures dans lesquelles le taux de prothrombine descend au-dessous de la normale : carences d'absorption et carences d'utilisation de la vitamine K sont

rencontrées surtout dans les troubles des fonctions hépatiques.

Au cours des cirrhoses, nous avons déterminé deux taux de prothrombine :

Premier cas : Cirrhose atrophique avec ascite énorme, cachexie avancée; taux le 19 février : 25 %. Décès le 13 mars après hématémèses abondantes.

Deuxième cas : Cirrhose + insuffisance cardiaque grave; le 21 février, taux 40 %. Décès le 30 février par collapsus cardiaque.

Un cas de kyste hydatique du foie : taux, 100 %.

Cinq cas d'insuffisance hépatique légère :

1° Ethylique de 35 ans, hépatomégalie légère; taux 65 %;
2° Cholécystite lithiasique; taux 50 %;
3° Insuffisant hépatique ayant présenté des épistaxis, 75 %;
4° Subictère congénital, 90 %;
5° Ictère catarrhal convalescent, 80 %.

Quatre cas d'urticaire rebelle : 80 %, 70 %, 100 %, 100 %. Signalons à ce propos un article étranger récent (Black [10]) relatant 156 cas d'urticaire rebelle avec une forte proportion de taux de prothrombine abaissés et de beaux résultats thérapeutiques par la vitamine K (78 % de succès).

Un cas de purpura cliniquement guéri, 60 %.

Quatre cas d'ictère par rétention : 1° 100 %; 2° 45 %; 3° 40 %. Nous n'avons pu suivre ces trois premiers cas, mais le quatrième cas fut intéressant : ictère par rétention, typique, taux de prothrombine 15 %, sans manifestations hémorragiques spontanées. Reçoit 60 milligrammes de vitamine K *per os* associés à 30 centigrammes d'extrait biliaire. Vingt-quatre heures après, taux 70 %. Subit le lendemain une laparotomie exploratrice confirmant le diagnostic de cancer de la tête du pancréas. Pas d'hémorragies.

Donc hypoprothrombinémie par simple carence d'absorption.

Enfin voici un cas d'hypoprothrombinémie au cours d'un traitement salicylé antirhumatismal : Enfant de 7 ans, atteint de rhumatisme articulaire aigu. Au huitième jour du traitement (à raison de 9 grammes de salicylate par jour), accidents hémorragiques gingivaux, épistaxis, éruption de taches purpuriques. En même temps, coma acidosique, avec réserve alcaline à 30. Temps de coagulation, 15 minutes. Taux de prothrombine, 30 %.

Un traitement antiacidosique intensif est institué; l'on administre 30 milligrammes de vitamine K par voie parentérale. Les hémorragies cessent le lendemain, mais l'état comateux subsiste et le malade emmené par sa famille qui le croit agonisant. Sort du coma au bout de trente-six heures. Ramené à l'hôpital huit jours après pour reprise du traitement salicylé. Taux de prothrombine, 90 %. Temps de coagulation, 3 minutes.

L'effet hépato-toxique du salicylate à haute dose et son retentissement sur la prothrombinémie a été signalé [30]. La surveillance fréquente du taux de prothrombine au cours du traitement salicylé est préconisée par Quick [70].

De même, au cours du syndrome toxique des brûlures graves, l'hypoprothrombinémie traduit l'intensité de l'atteinte hépatique [32].

Nous pouvons conclure de ces quelques faits que le taux de prothrombine reflète assez fidèlement l'atteinte des fonctions hépatiques; de plus, la réponse du taux de prothrombine à un apport de vitamine K important fournit une indication pronostique précieuse [50].

II. — Taux de prothrombine et grossesse.

Les modifications du taux de prothrombine pendant la grossesse ont déjà été suivies par plusieurs auteurs, mais leurs conclusions ne sont pas d'une concordance remarquable.

Norris et Rush situent à 115 p. 100 le taux moyen au

moment de l'accouchement, mesuré selon la méthode de Quick sans dilutions.

Helmann signale de son côté une moyenne de 105 p. 100.

Portes et Varangot, par contre, au cours de recherches effectuées pendant l'hiver 1940-1941, au moyen de la méthode électrophotométrique, rapportent des taux excessivement bas, la plupart de 50 à 10 %, qu'ils attribuent à une carence d'apport de vitamine K en relation avec les restrictions alimentaires.

Mais actuellement le problème de l'avitaminose K paraît devoir être limité à des phénomènes de carences d'absorption ou d'utilisation, puisque les bactéries du milieu intestinal humain synthétisent une quantité de vitamine suffisante en dehors de tout apport alimentaire.

Perrier, en 1942, utilisant la méthode de Smith, rapporte quelques chiffres d'hyperprothrombinémie, d'ailleurs modestes, au milieu de taux bas.

Or nous avons déjà souligné avec insistance combien le problème de l'hyperprothrombinémie dépend du choix de la méthode de mesure à mettre en œuvre.

Thodarson et von Kaulla [39] sont les seuls à signaler chez la femme enceinte des taux très élevés, jusqu'à 300 p. 100, parce qu'ils utilisent des méthodes avec dilution.

Nous avons donc cru intéressant de pratiquer quelques investigations en ce sens, en utilisant la méthode que nous pensons la plus appropriée, c'est-à-dire celle de Quick modifiée.

Dans le service de Clinique obstétricale de M. le Professeur Rivière, nous avons pratiqué une série de 40 mesures de taux de prothrombine de la femme enceinte, chez différents sujets dont l'âge de grossesse était réparti entre le troisième mois de gravidité et le vingt-cinquième jour après l'accouchement.

C'est dire que nous ne prétendons pas à fournir ici des résultats vraiment statistiques, mais plus modestement à évaluer l'ordre de grandeur et l'évolution de la prothrombinémie.

Voici l'énumération des taux obtenus, classés selon l'âge de grossesse du sujet étudié :

a) au cours du troisième mois : 75 et 130 p. 100;
b) au quatrième mois : 140 p. 100;
c) au cinquième mois : 130, 140, 110, 100, 90, 150 et 140 p. 100 (moyenne : 125);
d) au sixième mois : 160, 200, 140 p. 100;
e) au septième mois : 140 et 150 p. 100;
f) au huitième mois : 110, 200, 180, 160 et 180 p. 100 (moyenne : 165);
g) au neuvième mois : 130, 200, 160, 180, *240*, 150 p. 100 (moyenne : 180 p. 100);
h) au cours même du travail : 180 et 140 p. 100;
i) du premier au cinquième jour après l'accouchement : 130, 200, 140 et 200 p. 100;
j) du cinquième au dixième jour : 150, 180, 180, 150, 120, 150 p. 100;
k) au vingt-cinquième jour : 150 et 150 p. 100.

Donc, à partir du cinquième mois (et probablement plus précocement), la valeur moyenne du taux de prothrombine accuse une élévation très nette, qui croît et se généralise dans les mois suivants pour atteindre, à l'approche immédiate du terme, une valeur de 180 p. 100.

Dans les jours qui suivent l'accouchement, et même durant le premier mois probablement, cette hyperprothrombinémie ne subit pas de régression sensible.

Ces données, malgré leur nombre restreint, nous semblent s'imposer à l'attention par leur homogénéité (4 exceptions seulement sur 40 cas, limitées aux 5 premiers mois); elles ne pourraient être contestées que grâce à une objection péremptoire à la méthode utilisée.

Quick, pour son compte, ne mesure les hyperprothrombinémies que sur plasma non dilué et note un raccourcissement de temps de une à deux secondes par rapport au plasma normal pur; il lui serait cependant difficile de nier la valeur des

mesures en dilution pour les hyperprothrombinémies, alors qu'il ne conteste pas la signification de la dilution pour établissement d'une courbe d'étalonnage axec plasma normal. Il indique aussi [71] que le plasma de lapin coagule en 6 secondes et possède un taux de prothrombine de 500 p. 100 par rapport au plasma humain normal; pour nous, dont la thromboplastine est un peu moins active, nous avons trouvé sur plasma de lapin pur un temps de huit secondes, et sur plasma dilué au 1/8, seize secondes, soit sur la courbe une concentration en prothrombine de 60 p. 100, ce qui donne $60 \times 8 = 480$ p. 100 (bonne correspondance avec la donnée de Quick).

Le plasma de la femme enceinte de neuf mois dont le taux est chiffré à 240 p. 100 fournissait les données suivantes : pur, onze secondes (contre quinze au témoin), dilué au 1/8 : vingt secondes, soit 30 p. 100, qui, multiplié par 8, donnent 240 p. 100, et dilué au 1/16 : trente secondes, soit 15 p. $100 \times 16 = 240$.

Les circonstances nous ayant obligé de mettre rapidement le point final à cette étude, nous n'avons pu, nous nous en excusons, la poursuivre et compléter comme il eût été désirable.

Nous aurions voulu notamment préciser l'involution de l'hyperprothrombinémie après l'accouchement; il est permis de supposer qu'elle se place dans le cours du deuxième mois, en coïncidence avec le retour de couches, et sous l'influence de la restauration de l'équilibre neuro-hormonal féminin antérieur à l'état gravido-puerpéral.

Des investigations nombreuses et systématiques permettraient aussi d'évaluer la fréquence des exceptions à l'hyperprothrombinémie (laquelle semble bien être la norme) et de donner leur signification clinique aux dites exceptions. Nous avons pratiqué une détermination chez une femme de 45 ans, grande multipare (11 enfants) qui, au neuvième mois de sa grossesse, présentait un placenta prævia très hémorragique; or, le taux n'en était pas moins de 150 p. 100. Une opération césarienne, suivie d'hystérectomie, fut pratiquée

sans encombre. Donc, un taux de prothrombine élevé ne peut contre-balancer un facteur hémorragipare tel qu'un placenta prævia ou une inertie utérine. Mais il se pourrait que, dans de rares cas, une hypoprothrombinémie anormale soit à la base d'accidents hémorragipares.

En dehors de toute arrière-pensée finaliste, l'on peut interpréter l'hyperprothrombinémie gravidique comme un élément de cet ensemble de profondes modifications observées dans l'organisme maternel dès le début de la grossesse.

Une association spontanée vient à l'esprit, si l'on évoque la notion classique du maximum de fréquence des phlébites au cours du *post partum* : une exagération de l'aptitude coagulante du sang, entraînée par sa haute teneur en prothrombine, n'intervient-elle pas dans la pathogénie des accidents de thrombose veineuse ?

Certes, il serait pour le moins inconséquent de voir dans l'hyperprothrombinémie le facteur unique des phlébo-thromboses, car celles-ci feraient alors nécessairement partie du tableau normal du post partum; mais repousser l'hypothèse de leur rôle favorisant serait peut-être manquer de cet esprit éclectique si nécessaire dans l'interprétation des phénomènes complexes de la pathologie.

L'élément infectieux, s'il n'est pas le seul, conserve une importance primordiale au cours d'entités bien distinctes comme la thrombo-phlébite pelvienne suppurée, où les symptômes toxi-infectieux tiennent le premier plan de la scène; dans ce cas, le thrombus veineux constitue comme un repaire où les germes en pullulation défient l'offensive des thérapeutiques antimicrobiennes les plus puissantes.

Mais que dire de la thrombose latente, sans phénomènes généraux, qui, au lever de l'accouchée, révèle sa présence par un accident embolique parfois fatal ? que dire aussi de la phlegmatia alba dolens la plus classique, où l'on voit les thérapeutiques anticoagulantes par l'héparine ou la dicoumarine faire disparaître l'hyperthermie et normaliser le pouls dans des délais étonnamment brefs, bien que leur pouvoir anti-infectieux soit nul ?

Il semble donc possible de poser en principe que la thrombose veineuse résulte de l'interférence de plusieurs éléments, dont la part respective varie avec les diverses formes cliniques.

Ce sont d'une part les facteurs généraux à toute femme enceinte, hyperthrombinémie et séjour au lit (d'où inactivité musculaire des membres inférieurs et stase veineuse marquée dans le système cave inférieur); la présence d'un excès de prothrombine dans un sang au courant ralenti où les plaquettes se marginent aisément et peuvent exercer leur activité thrombo-plastique fait comprendre le danger accru d'apparition d'un coagulum.

Ce sont d'autre part des facteurs individuels plus contingents : existence d'une infection plus ou moins larvée, qualités particulières et congénitales du système veineux profond aussi bien que superficiel, qui augmentent encore les chances de voir se déposer un thrombus sur un endothélium altéré par exemple par la toxine streptococcique dans une veine ectasiée.

Dans l'existence de chacun de ces éléments, l'on peut trouver un champ à l'action prophylactique et thérapeutique : lever précoce, anticoagulants, thérapeutique anti-infectieuse au besoin.

Ces quelques considérations sur la pathogénie et la thérapeutique des thromboses nous amènent à aborder l'utilisation du dosage de la prothrombine au cours du nouveau traitement anticoagulant par la dicoumarine.

III. — Mesure du taux de prothrombine au cours de la thérapeutique anticoagulante des phlébites.

Il n'est pas dans nos intentions de faire une étude complète du traitement des phlébites par la dicoumarine, étude réalisée à Bordeaux par notre camarade Laville dans une thèse excellente inspirée par M. le Professeur agrégé Mahon, et qui relate

quinze observations avec contrôle du taux de prothrombine selon la méthode de Smith [46].

La thérapeutique anticoagulante par la dicoumarine apporte des possibilités remarquables, mais son maniement n'est pas sans danger; le dosage du taux de prothrombinémie est un élément de sécurité qu'on ne saurait négliger actuellement.

Rapportons ici une observation typique réalisée dans le service de M. le Professeur Rivière :

Mme X..., 40 ans, quatrième grossesse. Entre dans le service pour hémorragies par placenta prævia. Dans les antécédents, on note des varices anciennes. Opération césarienne le 6 mars 1946 suivie d'hystérectomie.

Suites opératoires fébriles, sulfamidothérapie.

Le 15 mars, phlegmatia alba dolens révélée par l'augmentation de volume du membre inférieur gauche. Taux de prothrombine, 180 p. 100. Pouls, 110. Température, 37°8.

Le 16, administration de 300 milligrammes de dicoumarine. Sédation de la talalgie.

Le 18, taux de prothrombine, 120 p. 100. Pouls, 80.

Le 19, 350 milligrammes de dicoumarine. L'œdème du membre atteint a régressé sensiblement.

Le 21, taux de prothrombine, 35 p. 100. L'évolution se poursuit favorablement, tant au point de vue des phénomènes objectifs que subjectifs.

Du point de vue de l'évolution de la prothrombinémie, nous constatons dans ce cas la nécessité d'une dose de 300 milligrammes à deux reprises pour faire descendre le taux au-dessous de la normale, et nous pouvons regretter de n'avoir pas donné une dose initiale plus forte, mais unique, de 500 milligrammes par exemple (10 comprimés à 0,050 g.) qui eût fait bénéficier plus rapidement la malade de l'effet thérapeutique, et plus complètement.

Nous relaterons maintenant une autre observation, que

nous n'avons pas suivi personnellement dès le début et qui est intéressante :

Mme X..., 28 ans, 4 enfants. Opérée le 12 mars 1946 pour métro-annexite, hystérectomie subtotale.

Le 13 mars, pouls, 110; température, 37°8. Dans l'éventualité d'un début de phlébite, il lui est administré 300 milligrammes de dicoumarine le 13, et 500 milligrammes le 14. Cette dose totale de 800 milligrammes en quarante-huit heures, donc très forte, est très bien supportée par la malade, dont l'état donne toute satisfaction.

Le 24, l'ablation des crins s'accompagne de suintements hémorragiques par chaque orifice, très prolongés, et humectant rapidement la compresse.

Le 25 mars, la malade se lève, mais survient une hémorragie par voie vaginale, qui persiste et s'amplifie le lendemain.

Le 27, l'on nous demande un dosage de prothrombine qui révèle un taux de 10 p. 100. La malade est agitée, inquiète, le facies altéré. Elle reçoit 5 milligrammes de vitamine K par voie intramusculaire.

Le 28 mars, nouveau dosage; taux : 15 p. 100. Les hémorragies persistent, l'état général est aussi inquiétant. La malade reçoit 15 milligrammes de vitamine K par voie parentérale, et ingère 8 comprimés de vitamine K de 2 milligrammes associée aux sels biliaires.

Le 29, taux : 100 p. 100. les hémorragies ont cessé; l'état général de la malade est transformé.

Nous voyons dans cette observation d'administration de dicoumarine à titre prophylactique un cas d'accidents hémorragiques survenus plus de dix jours après l'ingestion du produit; malgré son allure inquiétante, l'évolution a été heureusement et facilement modifiée par l'administration de vitamine K à dose élevée, mais non pas massive, le taux de prothrombine ayant remonté au taux normal de manière spectaculaire. Mais si l'on s'en réfère à la littérature concernant les accidents provoqués par la dicoumarine, il ne faut pas

trop compter sur la vitamine K pour pallier à des accidents graves et immédiatement menaçants, quoique Meunier et Meutzer rapportent avoir jugulé des hémorragies importantes par des doses massives de vitamine K (100 à 200 milligrammes).

A propos de cette observation, nous évoquerons aussi le problème de l'administration de dicoumarine à titre prophylactique. Dans le *post partum*, il est indiqué de recourir à ce procédé chez les femmes ayant des antécédents phlébitiques familiaux ou personnels, après dosage de la prothrombinémie.

En pathologie chirurgicale courante, cette prophylaxie doit s'entourer d'encore plus de précautions quant à la détermination préalable et sérieuse du taux de prothrombine et le choix de la dose administrée, celle-ci découlant, à notre sens, de celle-là. En effet, Field montre au cours d'une étude expérimentale sur le rat que l'hypoprothrombinémie obtenue avec une même dose de dicoumarine chez la femelle gravide est moins intense que chez les autres sujets [26], et nous le comprenons fort bien par la connaissance du degré de l'hyperprothrombinémie gravidique; donc il ne faudra pas assimiler la posologie convenable dans les phlébites du *post partum* et dans les autres phlébites, aussi bien à titre prophylactique que curatif.

Notons en passant le danger qu'il y aurait à se contenter du temps de coagulation toutes les fois que l'on pourra réaliser un dosage de prothrombine, car le temps de coagulation peut ne pas être modifié malgré un taux de prothrombinémie très bas.

Un dernier point à envisager est le taux de prothrombine le plus bas qu'il semble permis d'atteindre pour obtenir de la dicoumarine le maximum d'efficacité thérapeutique dans le minimum de temps, sans faire courir de risque au malade; la question est épineuse et risque d'être résolue en fin de compte suivant le tempérament du thérapeute, depuis le timoré inefficace jusqu'au novateur téméraire.

Quick rapporte avoir observé plusieurs fois au cours de la thérapeutique des taux de 5 p. 100 bien supportés, et qui certes doivent donner un effet anticoagulant optimum [71].

Varangot rapporte récemment une étude expérimentale instructive à ce sujet [83]. Chez le lapin, une thrombose est provoquée suivant la technique de Reilly, en maintenant cinq minutes au contact d'une veine dénudée un tampon imbibé toxine streptococcique; l'action prophylactique de divers taux d'hypoprothrombinémie artificielle est étudiée en fonction des pourcentages de thromboses observés. Il apparaîtrait que les taux supérieurs à 20 p. 100 correspondent à 15 p. 100 de succès dans l'action contre la thrombose, et les taux inférieurs à 20 p. 100 donneraient 85 p. 100 de succès.

Donc, l'intérêt d'aboutir à un taux très bas semble démontré.

La dose nécessaire dépendra :

a) de l'état général du malade, en considérant l'existence de phénomènes infectieux, les tares organiques et plus spécialement hépatiques;

b) du taux de prothrombine avant traitement.

D'après Varangot, une dose de 300 milligrammes entraîne un abaissement du chiffre du taux de 20 à 60 maximum. C'est bien cette correspondance de la dose à la quantité de chute du taux que nous avons obtenu chez notre phlébitique, où le taux passe de 180 à 120 à la première dose; mais pour la deuxième dose, chute un peu plus marquée, de 120 à 35 p. 100, il faut donc se méfier des actions cumulatives dans les doses répétées à intervalles inférieurs à huit ou dix jours.

*
* *

Après une esquisse des facteurs essentiels de la coagulation sanguine, nous avons examiné au cours de ces quelques pages les possibilités offertes par les méthodes de mesure du taux de prothrombine, à divers points de vue : fidélité, précision, commodité.

Nous avons retenu : d'une part, les méthodes de Smith et de Soulier, pour leur simplicité d'exécution qui n'exclut pas, dans certaines limites, une bonne précision; d'autre part, nous avons montré les grands avantages de la méthode de Quick modifiée, qui offre toutes les garanties de précision, alliées à un champ d'action plus riche que les autres méthodes. Puis, nous avons confirmé l'existence de l'hyperprothrombinémie gravidique, évalué son importance et sa fréquence, discuté sa signification et ses conséquences. Ainsi amené au problème de la thrombose veineuse, et de ses thérapeutiques nouvelles, nous avons souligné le rôle majeur de la détermination du taux de prothrombine dans ce domaine.

CONCLUSIONS

Après avoir posé l'importance de la mesure du taux de prothrombine du sang en fonction des acquisitions thérapeutiques nouvelles concernant la coagulation, nous avons examiné d'un point de vue théorique et pratique la valeur des diverses méthodes de mesure.

La méthode de Quick avec dilutions en plasma déprothrombiné nous est apparue comme la méthode la plus fidèle, principalement en vue de l'évaluation exacte du taux des hyperprothrombinémies. Nous avons pu préciser ainsi l'élévation très importante et constante du taux de prothrombine chez la femme enceinte, et discuter cette donnée en fonction du problème pathogénique des thrombo-embolies du *post partum* et de la conduite du traitement des phlébites par la dicoumarine.

Le mesure du taux de prothrombine peut être réalisée au laboratoire avec précision, dans tous les sens de variation, par la méthode de Quick modifiée; le praticien possède dans les méthodes de Smith et de Soulier, des méthodes moins rigoureuses, mais néanmoins fort utiles pour évaluer un degré d'hypoprothrombinémie et en suivre l'évolution.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
M. RIVIÈRE.

Vu : *Le Doyen,*
R. DUPÉRIÉ.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie,
Bordeaux, le 28 mars 1946.
A. MARCHAUD.

BIBLIOGRAPHIE

1. Almquist (A.-J.) and Klose. — The antihemorragic activity of certain naphtoquinons. *J. of Am. Chem. Soc.*, 7, 1923, june 1939.
2. Astrup (T.) et Darling. — Measurement and properties of antithrombin. *Act. physiol. scand.*, 1942, t. 4, p. 293-308.
3. — Antithrombin and heparin. *Act. physiol. scand.*, 1943, t. 5, p. 13-30.
4. Astrup (T.), Selsö (S.), Volkert (M.). — Bemerkungen uber die Bestimmung des antithrombin gehalt im blüte. *Bioch. zeit.*, 5 nov. 1943, 315, p. 303-309.
5. Baptiste (L.). — Phlébites; traitement actuel, en particulier par les substances anticoagulantes. Th. méd. Paris, 1945, n° 123.
6. Barker (N. W.), Allen (W.), Waugh. — L'usage du dicoumarol dans la prévention des thrombo-phlébites opératoires et de l'embolie pulmonaire. *Proceed. Staff. Mayo. Clin.*, 1943, 18, 102-107; et *Presse méd.*, 1945, n° 24, p. 328.
7. Baron (P.-A.). — La thérapeutique préventive et curative des phlébites par 33'-méthylène-bis-4-hydroxycoumarine. Th. méd. Paris, 1945, n° 586.
8. Benhamou (E.) et Pugliese (J.). — Emploi de suspensions concentrées de plaquettes sanguines. *C. R. S. Biol.*, 24 mars 1945.

9. Bergström and Jorpes. — Studies on pure héparin. *Scand. Arch. Physiol.*, 1937, t. 76, p. 175-185.

10. Black (H. J.). — Traitement de l'urticaire par la vitamine K synthétique. *J. of Allergy*, mars 1945, vol. 16, p. 83-86.

11. Bouvrain (Y.). — L'action anticoagulante des dérivés de la coumarine. *Presse méd.*, 1945, n° 31, p. 420.

12. Butt (H. R.), Leake (W. H.), Solley (R. F.), Griffith (G. C.), Huntington (R. V.) and Montgomery (H.). — Studies on reumatic fever; the physiological effect of sodium salycilates on the human being, with particular reference to the prothrombin level of the blood and the effect on hepatic parenchyma. *J. A. M. A.*, 128, 1195-1945.

13. Caroli, Lavergne et Bose. — Hémorragies des hépatiques, taux de prothrombine et vitamine K. *Paris médical*, 15 juill. 1939.

14. Chargaff (E.). — Thromboplastic proteïns in human organs. *J. of Biol. Chem.*, 161, n° 1, nov. 1945, p. 389-394.

15. Chevallier (P.), Guillot (M.), Quivy (D.) et Fiehrer (A.). — Taux d'héparine d'un plasma d'hémophile. Soc. franç. d'hémat., 15 nov. 1945.

16. Dam (H.) and Glavind (J.). — Vitamin K in human pathology. *Lancet*, 1, 720-721, 29 mars 1938.

17. Dam (H.), Schönheyder (F.) and Tage-Hansen. — Studies on the mode of action of vitamin K. *Bioch. J.*, 30, 1075, juin 1936.

18. Daughtry (W. C.). — Le Dicoumarol en chirurgie. *Am. J. of Surg. N. Y.*, vol. 67, n° 1, avr. 1945, p. 80-83.

19. Deuber. — Thrombose cérébrale et héparine. *Schw. Med. Woch.*, Bâle, t. 75, n° 9, 3 mars 1945, p. 192-193.

20. Eagle. — The role of prothrombin and platelets in the formation of thrombin. *J. Gen. of Physiol.*, 1935, t. 18, p. 531-545.

21. Eagle and Harris. — Studies on blood coagulation; coagulation of blood by protéolytic enzymes. *J. Gen. of Phys.*, 20, 543, 1937.

22. Facquet (J.), Sassier (R.) et Kisch (Mlle). — Action de la dicoumarine sur la prothrombinémie et la coagulation plasmatique chez l'adulte normal. *Bull. Soc. Biol.*, 10 mars 1945.

23. Ferguson (J. H.), Ann Arbor and Milch. — A standardized procedure for the study of coagulation reactions *in vitro*. *J. of Labor. and Clin. Med.*, n° 24, déc. 1938, p. 273.

24. — *J. H. Science*, 1943, 97, 319.

25. Fiechter. — Eine micromethode zur bestimmung der Prothrombinzeit. *Schweiz. Med. Woch.*, 12, 259, 1940.

26. Field (J. B.), Overman (R. S.), Baumann (C. A.). — Prothrombin activity during pregnancy and lactation. *Am. J. of Phys.*, oct. 1942, 137, p. 509-514.

27. Field (J. B.) and Link (K. P.). — Note on hyperprothrombinémia induced by vitamin K. *J. of Biol. Chem.*, 156, 739, 1944.

28. Finkelstein (M.). — L'activité thromboplastique de l'extrait de placenta. *Nature*, Londres, 1945, 155, 17 févr., n° 3929, p. 202.

29. Hays (H. V.) and Lein (J.). — The activities of various preparations of thromboplastic substances. *Arch. Bioch.*, june 1945, 7, p. 69-76.

30. Hegbley (C. S.). — Prothrombin, vitamin K, sodium salycilates. *J. A. M. A.*, 15 déc. 1945, 129, n° 16, p. 11-23.

31. Herbert (F. K.). — Note on the estimation of plasma prothrombin. *Chem. Ind. London*, 16 août 1941, 60, 618.

32. Hoet (J. P.), Buisseret (J.) et Vandenbrouke (J.). — Le taux de prothrombine dans les brûlures. *C. R. S. Biol.*, 10 janv. 1945, t. 139, n^{os} 1-2, p. 86-87.

33. Howell (W. H.). — Progrès récents dans le problème de la coagulation sanguine applicables en médecine. *J. A. M. A.*, 117, p. 1059. 27 sept. 1941.

34. Howell et Holt. — Two new factors in blood coagulation; heparin and antiprothrombin. *Am. J. Physiol.*, 1918, t. 47, p. 328-341.

35. Hurn (M.), Barker (N. W.) and Magath (T. B.). — The determination of the prothrombin time following the administration of dicumarol, with special references to thromboplastin. *J. of Labor. and Clin. Med.*, 30, 432, 1945.

36. Jeanneret (H.). — Contribution à l'étude de l'action anticoagulante de la dicoumarine synthétique sur l'organisme humain. *Schw. Med. Woch.*, t. 74, n° 25, 24 juin 1944, p. 696.

37. Kato (K.) et Poucher. — Prothrombin in the blood of newborn infants. *J. A. M. A.*, march 1940.

38. Kaulla (von). — L'hypoprothrombinémie artificielle et ses possibilités d'emploi thérapeutique. *Klin. Woch.*, 205, 6 mars 1943.

39. — L'hyperprothrombinémie. *Klin. Woch.*, 16 oct. 1943, 22, 646-648.

40. — Prophylaxie de la thrombo-embolie et relations avec le danger de l'intervention chirurgicale. *Schw. Med. Woch.*, Bâle, t. 75, n° 9, 3 mars 1945, p. 193-196.

41. Klien (B.). — La thérapeutique anticoagulante de la thrombose de la veine centrale de la rétine. *Arch. of Opht.*, Chicago, t. 29, n° 669, et *Presse méd.*, 1945, n° 38, p. 508.

42. Koller. — Uber die Klinische Wirksamkeit von naphtoquinon derivatives. *Schw. Med. Mchnschr.*, 69, 1159, nov. 1939.

43. Lacomme (M.). — Hémorragies du nouveau-né et carence en vitamine K. Résultats du traitement vitaminique dans les hémorragies digestives et ombilicales. *Sem. des hôp. Paris*, 15 mars 1945, n° 10, p. 251.

44. Lavergne (H.). — Valeur de quelques techniques de dosage de la prothrombine. *Paris médical*, 30 avril 1945, n° 12, p. 120.

45. Lavergne-Poindessault (Blanche). — Hémorragies des hépatiques, taux de prothrombine et vitamine K. Thèse méd. Bordeaux, 1940, n° 114.

46. Laville (J.-P.). — La dicoumarine dans le traitement des phlébites après l'accouchement. Thèse méd. Bordeaux, 1946.

47. Léger (L.). — Un nouvel agent hémostatique, la thrombine. *Presse méd.*, n° 46, 17 nov. 1945, et n° 5, 2 févr. 1946.

48. Legler. — Uber die kinetik der Blutgerinnung. *Helvet. chim. act.*, 1943, t. 26, p. 1512 et 1673.

49. Lehmann. — La vitamine K, produit prophylactique chez 13.000 bébés. *Lancet*, n° 16, 15 avr. 1944, p. 493.

50. Lelong (K. M.), Rossier (A.) et Soulier (J. P.). — Valeur pronostique dans les infections graves du nourrisson de la réponse du taux de prothrombine à l'apport de vitamine K. *Bull. Soc. méd. hôp. Paris*, 12 mai 1944, p. 235-238.

51. Létard (H.). — Les troubles de la coagulation du sang par déficience en prothrombine et en thromboplastine. Thèse méd., Paris, 1941.

52. Lian, Frumusan et Sassier. — Méthode optique pour l'étude de la coagulation du sang : technique et résultats. *Le Sang*, 1939, 8, 817.

53. Lyons (R. N.). — Thiol-vitamin K mechanism in the clotting of fibrinogen. *Nature*, London, 26 mai 1945, 155, p. 633.

54. Mallet-Guy (P.) et Rouchet (J.). — Vitamine K et chirurgie des ictériques. *Revue du foie*, Paris, 3, n° 4, juill. 1944, p. 217.

55. Melin (G.). — Rapport entre le taux de prothrombine et la valeur d'hématocrit. *Act. Pediatr. Upsal.*, 32, 3-4, 2 avr. 1945, p. 641.

56. Meunier et Dreyfuss. — Analyse photométrique de la coagulation plasmatique. Applications pratiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1940, t. 22, p. 529-538.

57. Meunier et Mentzer. — A propos du dicoumarol, antivitamine K. *Presse méd.*, n° 28, 14 juill. 1945, p. 390.

58. Molesset. — Résistance capillaire et taux de prothrombine des nouveau-nés débiles et prématurés. Thèse méd. Paris, 1945, 269.

59. Moreau (R.) et Soulier (J.-P.). — Variations du taux de prothrombine chez l'adulte. *Paris méd.*, n° 23, 20 août 1945, p. 253.

60. Nja (A.). — Le purpura allergique avec hypothrombinémie. *Acta Pédiatr. Upsal.*, 31 oct. 1945, p. 54.

61. Nolf (P.). — Le plasma phosphaté, réactif de la coagulation du sang. *Arch. intern. de pharmacol et de thérap.*, 70, 5, 1945.

61 *bis*. Nygaard (K. K.). — A New apparatus for photoélectric recording of the coagulabilité of blood and other progressing processes. *J. Lab. and clin. med.*, 1939, 24, 517.

62. Olivier (C.) et Mattei (M.). — Action anticoagulante d'un dérivé de la dicoumarine. Applications aux phlébites. *Presse méd.*, 1945, n° 7, p. 83.

63. O'Neal (W. J.) et Lam (C. R.). — Experiments on components A and B of prothrombin. *Am. J. of Med. Sc.*, Philadelphie, août 1945, vol. 210, n° 2, p. 181.

64. Perrier (P.-L.). — Contribution à l'étude de la prothrombine du sang chez la femme enceinte et le nouveau-né. Thèse Bordeaux, 1942.

65. Portes et Varangot. — Sur le taux de prothrombine dans le sang maternel et dans le sang fœtal au moment de l'accouchement. *C. R. Ac. sciences*, 212, 177, 1941.

66. Quick (A. J.), Stanley Brown and Bancroft. — A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. *J. A. M. A.*, 190, 505, oct. 1935.

67. Quick (A. J.) and Leu (M.). — Quantitative determination of prothrombin. *J. of Biol. Chem.*, 119, juin 1937.

68. Quick (A. J.). — On the constitution of prothrombin. *Am. J. of Physiol.*, 140, 212, 1943.

69. Quick. — The anticoagulant effect *in vivo*, with special reference to heparin and dicoumarol. *Physiol. Reviews*, 1944, t. 24, p. 297-318.

70. — Changes of the prothrombin level in human blood. *J. of Biol. Chem.*, 161, n° 1, nov. 1945, p. 33.

71. — Effect of synthetic vitamin K and of quinine sulfate on the prothrombin level. *J. of Laborgtory and Clinical Med.*, jan. 1946, vol. 31, n° 1, p. 79.

72. Pinard (P.). — Etude sur la vitamine K. Thèse Paris, 1945, n° 924.

73. Quivy (Denise). — Evaluation de l'héparine *in vitro*, héparinémie au cours de certaines agressions. Thèse de sciences, Paris, 1945.

74. Rasse (P.). — Pachyméningite hémorragique du nourrisson. Traitement par la vitamine K. Thèse Paris, 1945, n° 171).

75. Ravina (J.). — Traitement préventif et curatif des thromboses par abaissement du taux de prothrombine sanguine. *Sem. des hôp. Paris*, n° 10, 15 mars 1945, p. 254.

76. Shapiro (S.) et Campbell (H.). — Les effets d'une faible dose de dicoumarine au cours des maladies du foie. *Am. J. of Med. Sc.*, juin 1943, 205, p. 808.

77. Smith, Ziffren, Owen et Offmann. — Clinical and experimental studies on vitamine K. *J. A. M. A.*, 380, juill. 1939.

78. Sommar Bruzelius. — Dicoumarin in clinical use. *Act. chirurg. scand.*, vol. 92, 1945.

79. Soulier (J.-P.). — La prothrombine et la vitamine K chez l'enfant. Thèse Paris, 1944.

80. Spooner (M.) et Meyer (O.). — The influence of dicoumarol on platelets adhesiveness. *J. of Lab. and Clin. Med.*, avr. 1945, 30, p. 350.

81. Takatts (G. de). — Nervous regulation of clotting mechanism. *Annals Surgery.*, Chicago, févr. 1944.

82. Thodarson, Begtrup et Hansen. — *Acta Medica Scand.*, 1943, vol. CXII, p. 459.

83. Varangot (J.) et Vassy (S.). — Etude expérimentale et clinique de l'action du dicoumarol sur les thromboses veineuses. *Sem. des hôp. Paris*, 21 mars 1946, n° 11, p. 476.

84. Warner, Brinkous et Smith. — A quantitative study of blood clotting, fluctuations under experimental conditions. *Am. J. of Phys.*, 114, 667, 1936.

85. Wilson (S. J.). — Quantitative studies on antithrombin. *Arch. int. Med.*, avr. 1942, 69, 647-661.

86. Wöhlisch (E.). — Prédisposition à la thrombose, teneur en antithrombine et spectre albuminique du sérum. *Klin. Woch.*, 28 févr. 1942, 21, 208.

36 *bis*. Haquin (C.). — La vitamine K. *Bull. méd.*, 11 déc. 1945, n° 29, p. 423.

52 *bis*. Loomis (E. C.) et Seegers (W. H.). — Purified prothrombin : factors which influences its activation. *Arch. Biochem.*, oct. 1944, 5, 265.

Dépôt légal effectué en 1946 (2e trimestre).

23863. — Imprimeries Delmas, Bordeaux (31.0192). — 1946